

**DETEKSI *Mycobacterium tuberculosis* PADA SAMPEL DARAH
ASAL SUSPEK TB LATEN DENGAN MENGGUNAKAN
METODE PCR**



Skripsi

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Sains
Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar

Oleh:

RISQA NUR QALAM

NIM. 60300113050

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
MAKASSAR

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UIN ALAUDDIN MAKASSAR

2017

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Risqa Nur Qalam
NIM : 60300113050
Tempat/Tgl. Lahir : Ujung Pandang, 21 Juli 1994
Jur/Prodi : Biologi/S1
Fakultas : Sains dan Teknologi
Alamat : Jl. Poros Asrama Haji, Perum. Graha Tamarunang Indah
Blok A1, No.1a
Judul : Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Sampel Darah
Asal Suspek TB Laten dengan Menggunakan Metode PCR

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Jika dikemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, 10 Agustus 2017
Penyusun

RISQA NUR QALAM
NIM: 60300113050



PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Sampel Darah Asal Suspek TB Laten dengan Menggunakan Metode PCR”, yang disusun oleh Risqa Nur Qalam, NIM: 60300113050, mahasiswa Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang *munaqasyah* yang diselenggarakan pada hari Jumat, tanggal 11 Agustus 2017 M, bertepatan dengan 18 Dzul-qaidah 1438 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Ilmu Sains dan Teknologi, Jurusan Biologi (dengan beberapa perbaikan).

Makassar, 11 Agustus 017 M
18 Dzul-qaidah 1438 H

DEWAN PENGUJI:

Ketua	: Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag	(.....)
Sekretaris	: St. Aisyah Sijid, S.Pd., M.Kes	(.....)
Munaqisy I	: Dr. Mashuri Masri, S.Si., M.Kes	(.....)
Munaqisy II	: Fatmawati Nur, S.Si., M.Si	(.....)
Munaqisy III	: Dr. Muhammad Shuhufi, M.Ag	(.....)
Pembimbing I	: Dr. Cut Muthiadin, S.Si., M.Si	(.....)
Pembimbing II	: Isna Rasdianah Azis, S.Si., M.Sc	(.....)

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI

Diketahui oleh:
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar,
Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag
NIP. 19691205 199303 1 001

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Pembimbing penulis skripsi Saudari Risqa Nur Qalam, NIM: 60300113050, mahasiswa Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, setelah meneliti dan mengoreksi dengan seksama skripsi yang berjudul, "Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Sampel Darah Asal Suspek TB Laten dengan Menggunakan Metode PCR", memandang bahwa hasil penelitian skripsi tersebut telah memenuhi syarat-syarat ilmiah dan dapat disetujui untuk diajukan kesidang *munaqasyah*.

Demikian persetujuan ini diberikan untuk diproses lebih lanjut.

Makassar, 11 Agustus 2017

Pembimbing I



Dr. Cut Muthiadin, S.Si., M.Si
NIP. 198211102009122005

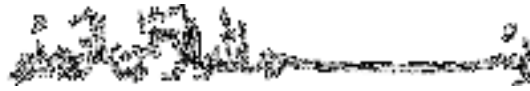
Pembimbing II



Isna Rasdianah Azis, S.Si., M.Sc
NIDN. 2026078401



KATA PENGANTAR



Segala puji bagi Allah swt. atas rahmat dan hidayah-Nya. Dengan menyebut nama Allah swt. yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, kami penjatkan puja dan puji syukur atas kehadiran-Nya, yang telah melimpahkan rahmat, hidayah dan karuninayah-Nya kepada kami, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Sampel Darah Asal Suspek TB Laten dengan Menggunakan Metode PCR**”.

Skripsi ini telah kami susun dengan maksimal dan mendapatkan bantuan dari berbagai pihak sehingga dapat memperlancar pembuatan skripsi ini. Untuk itu kami menyampaikan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam pembuatan skripsi ini.

Sebuah persembahan dan terima kasih yang khusus penulis persembahkan kepada Ayahanda **Drs. Abdul Hafid** dan Ibunda **Haspia B.** yang telah mencurahkan seluruh kasih sayangnya, berkorban dan telah bekerja keras membesarkan dan membiayai penulis hingga dapat menyelesaikan pendidikan pada bangku kuliah hingga mendapatkan gelar Sarjana.

Olehnya secara mendalam penulis sampaikan banyak terima kasih kepada semua yang membantu dalam penyelesaian skripsi ini diantaranya:

1. Prof. Dr. Musafir Pabbari, M.Si., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar dan seluruh jajarannya yang telah memberikan kebijakan-

kebijakan membangun UIN Alauddin Makassar agar lebih berkualitas sehingga dapat bersaing dengan Universitas lainnya.

2. Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, beserta Wakil Dekan I, Wakil Dekan II, Wakil Dekan III dan seluruh staf administrasi yang telah memberikan berbagai fasilitas kepada kami selama masa pendidikan.
3. Dr. Mashuri Masri, S.Si., M.Kes., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi dan Sekertaris Jurusan Hasymuddin, S.Si., M.Si yang telah banyak memberikan saran kepada kami selama masa pendidikan.
4. Dr. Cut Muthiadin S.Si., M.Si selaku pembimbing I dan Isna Rasdianah Azis S.Si., M.Sc selaku pembimbing II dalam penyusunan skripsi yang telah banyak meluangkan waktunya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Dr. Mashuri Masri, S.Si., M.Kes., selaku pembahas I, Fatmawati Nur S.Si., M.Si., selaku pembahas II dan Dr. Muhammad Shuhufi M.Ag selaku pembahas III yang telah memberikan saran dan masukan dalam penulisan skripsi ini.
6. St. Aisyah Sijid, S.Pd., M.Kes., selaku Penasehat Akademik yang telah membimbing penulis dalam bidang akademik selama masa pendidikan.
7. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar yang selama ini telah mendidik penulis dengan baik, sehingga penulis dapat menyelesaikan pendididkan pada tingkat perguruan tinggi.

8. Eka Sukmawaty, S.Si., M.Si selaku Kepala Laboratorium Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar dan seluruh stafnya yang telah membimbing dalam proses praktikum selama masa pendidikan.
9. Bapak dan Ibu pegawai Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar (BBKPM Makassar) yang telah memberikan izin dan bantuan dalam proses pengambilan sampel.
10. Bapak dan Ibu pegawai Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin (RSP UNHAS) yang senantiasa membimbing selama penelitian berlangsung.
11. Kepada kakak ku Sugiharto Abdullah, S.M, Ma'ful Akbar, Fandi Nur Dianto, A. Md, Adik ku Nurul Qalbi dan Nur Ayu Bihra tersayang yang telah memberikan do'a, dukungan moril dan material.
12. Kepada Muh. Agung Dewantara, yang selalu memberikan do'a, support, bantuan dalam proses penulisan skripsi ini, serta setia menemani penulis dalam suka dan duka.
13. Sahabat, teman, sekaligus saudara Datin Miriam Putri Surbakti, Herlina S, Afna Mardatillah dan Nurul Afni yang senantiasa memberikan dukungan, saran dan bantuannya.
14. Teman-teman "**BRACHIALIS**" (Biologi Angkatan 2013) yang senantiasa memberikan do'a dan motivasinya kurang lebih 4 tahun.
15. Adik-adik mahasiswa Jurusan Biologi 2014, 2015 dan 2016.

16. Teman-teman KKN Reguler Angkatan 53 di Kabupaten Gowa, Kecamatan Bajeng Barat.

17. Serta semua pihak yang telah membantu dalam penulisan tugas akhir ini yang tidak dapat dituliskan satu per satu.

Akhir kata penulis memohon maaf atas segala kesalahan baik disengaja maupun tidak disengaja. Penulis menyadari bahwa karya sederhana ini jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat konstruktif dari pembaca, sebagai bahan perbaikan kedepannya. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca umumnya. Semoga kita selalu dalam lindungan Allah swt. yang dilimpahkan rahmat dan ridho-Nya. Aamiin

Makassar, 10 Agustus 2017

Penulis



DAFTAR ISI

JUDUL i

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI..... ii

PENGESAHAN SKRIPSI iii

PERSETUJUAN PEMBIMBING..... iv

KATA PENGANTAR v

DAFTAR ISI..... ix

DAFTAR TABEL..... xi

DAFTAR ILUSTRASI xii

ABSTRAK xiii

ABSTRACT..... xiv

BAB I PENDAHULUAN 1-15

 A. Latar Belakang 1

 B. Rumusan Masalah 8

 C. Ruang Lingkup Penelitian..... 9

 D. Kajian Pustaka/ Penelitian Terdahulu 9

 E. Tujuan Penelitian 14

 F. Kegunaan Penelittian 15

BAB II TINJAUAN TEORITIS..... 16-39

 A. Ayat yang Relevan 16

 B. Tinjauan Umum *Mycobacterium tuberculosis* 19

 C. Tinjauan Umum TB Laten/TB Paru..... 21

 D. PCR (*Polymerase Chain Reaction*)..... 32

 E. Elektroforesis 37

 F. Kerangka Pikir 39

BAB III METODOLOGI PENELITIAN..... 40-46

 A. Jenis dan Lokasi Penelitian..... 40

 B. Pendekatan Penelitian..... 40

 C. Populasi dan Sampel..... 40

 D. Variabel Penelitian 41

E. Defenisi Operasional Variabel..... 41

F. Instrumen Penelitian (Alat dan Bahan) 41

G. Prosedur Kerja 42

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....47-56

A. Hasil Penelitian 47

B. Pembahasan 49

BAB V PENUTUP.....57-57

A. Kesimpulan 57

B. Implikasi Penelitian (Saran) 57

KEPUSTAKAAN58-63

LAMPIRAN-LAMPIRAN.....64-68

DAFTAR RIWAYAT HIDUP 69



DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Komposisi PCR Mix <i>M. tuberculosis</i>	44
Tabel 3.2. Run/Kondisi PCR.....	45



DAFTAR ILUSTRASI

Gambar 2.1. Skema Patofisiologi TB Paru 30

Gambar 2.2. Tahapan PCR 35

Gambar 4.1. Hasil Elektroforesis dari Produk Amplifikasi *M. tbc* (T4T5)
(M : Marker 1 kb, K⁽⁺⁾ : Kontrol Positif, R.1,R.2,R.3,
R.5,R.4 : Sampel, K⁽⁻⁾ : Kontrol Negatif)..... 47

Gambar 4.2. Hasil Elektroforesis dari Produk Amplifikasi *M. tbc* (T4T5)
Dengan Siklus yang Berbeda dari Hasil Elektroforesis
Pertama (M : Marker 1 kb, K⁽⁺⁾ : Kontrol Positif, K⁽⁻⁾ :
Kontrol Negatif, R.1,R.2,R.3,R.4,R.5 : Sampel) 48

Gambar 4.3 Hasil Elektroforesis dari Produk Amplifikasi *M. tbc* (T4T5)
(M : Marker 1 kb, K⁽⁺⁾ : Kontrol Positif, K⁽⁻⁾ : Kontrol
Negatif, R.1,R.2,R.3,R.4,R.5 : Sampel,
M : Marker 1 kb)..... 48



ABSTRAK

Nama : Risqa Nur Qalam
Nim : 60300113050
Judul : Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Sampel Darah Asal
Suspek TB Laten dengan Menggunakan Metode PCR

Tuberkulosis (TB) adalah suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Infeksi TB laten adalah suatu keadaan seorang terinfeksi TB namun tidak didapatkan bukti klinis. Deteksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada darah suspek TB laten sebagai penyebab TB positif telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya *Mycobacterium tuberculosis* pada TB laten dengan metode PCR. Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai dengan Juni 2017 di Rumah Sakit Universitas Hasanuddin. Dengan menggunakan 5 sampel darah suspek TB laten dari Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar. Penelitian ini menggunakan metode PCR untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dalam darah. Pada penelitian ini menggunakan satu set primer *M. tbc* (T4T5) yang spesifik untuk *M. tuberculosis*. Satu dari 5 sampel darah menunjukkan hasil yang positif yaitu dengan ketebalan band berada pada posisi 123 bp.

Kata kunci : Sampel darah, Suspek TB laten, *Mycobacterium tuberculosis*, PCR



ABSTRACT

Name : Risqa Nur Qalam
Student ID Number : 60300113050
Title : Detection of *Mycobacterium tuberculosis* from Blood
Samples in Latent TB Suspect with PCR Metode

Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by bacteria *Mycobacterium tuberculosis*. Latent TB infection is a persons condition which by TB infected however no is found clinical evidence. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* bacteria from blood samples latent TB suspect as the cause of TB positive have been done. This research aimed to know the existence of *Mycobacterium. tuberculosis* in latent TB with the PCR metode. Research conducted on April until June 2017 at University of Hasanuddin Hospital. Using 5 blood samples latent TB suspect from Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar. This research using PCR metode for detect *Mycobacterium tuberculosis* inside the blood. For this research using one set of primary *M. tbc* (T4T5) that specific for *M. tuberculosis*. One of 5 samples of blood show the positive result that is with thickness bands there at the position 123 bp.

Key word: Blood samples, Latent TB suspect, *Mycobacterium tuberculosis*, PCR.



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Napas merupakan hal yang paling utama dalam kehidupan. Manusia diciptakan dari setetes air yang dibuahi dalam rahim wanita, kemudian menjadi segumpal darah, lalu segumpal daging, kemudian ditiupkan Ruh sebagai kelangsungan hidup janin. Sebagaimana dalam ayat al-Qur'an surah As-Sajdah/7-9:32 yang berbunyi:

الَّذِي أَحْسَنَ كُلَّ شَيْءٍ خَلَقَهُ وَبَدَأَ خَلْقَ الْإِنْسَانِ مِنْ طِينٍ ﴿٧﴾ ثُمَّ جَعَلَ نَسْلَهُ مِنْ سُلَالَةٍ مِّنْ مَّاءٍ مَّهِينٍ ﴿٨﴾ ثُمَّ سَوَّاهُ وَنَفَخَ فِيهِ مِنْ رُّوحِهِ ﴿٩﴾ وَجَعَلَ لَكُمُ السَّمْعَ وَالْأَبْصَارَ وَالْأَفْئِدَةَ قَلِيلًا مَّا تَشْكُرُونَ ﴿١٠﴾

Terjemahnya:

Yang membuat segala sesuatu yang Dia ciptakan sebaik-baiknya dan yang memulai penciptaan manusia dari tanah. Kemudian Dia menjadikan keturunannya dari saripati air yang hina. Kemudian Dia menyempurnakan dan meniupkan ke dalamnya roh (ciptaan)-Nya dan Dia menjadikan bagi kamu pendengaran, penglihatan dan hati; (tetapi) kamu sedikit sekali bersyukur (Kementrian Agama RI, 2012).

Malik meriwayatkan dari Zaid bin Aslam tentang: *“Yang membuat segala sesuatu yang Dia ciptakan sebaik-baiknya,”* dia berkata: “Dengan sebaik-baiknya dalam menciptakan segala sesuatu. Seakan-akan Dia menjadikannya dari yang terdepan dan yang terbelakang. Kemudian ketika Allah telah menyebutkan penciptaan langit dan bumi, Dia mulai menyebutkan tentang penciptaan manusia.”

Maka Allah Ta'ala berfirman *“Dan yang memulai penciptaan manusia dari tanah,”* yaitu, Dia menciptakan bapak manusia, yaitu Adam dari tanah. *“Kemudian Dia menjadikan keturunannya dari saripati air yang hina (air mani),”* yaitu mereka saling berketurunan pula dari air mani yang keluar dari tulang sulbi laki-laki dan tulang dada wanita. *“Dan meniupkan ke dalam (tubuh)nya ruh (ciptaan)-Nya dan Dia menjadikan bagimu pendengaran, penglihatan dan hati,”* yaitu akal. *“(Tetapi) kamu sedikit sekali bersyukur,”* yaitu dengan kekuatan yang diberikan Allah kepada kalian. Orang yang berbahagia adalah orang yang dapat mengfungsikan hal tersebut di dalam ketaatan kepada Rabb-Nya (Tafsir Ibnu Katsir, 2003).

Kepribadian manusia adalah suatu karakter atau corak kehidupan yang ada pada diri seseorang. Kepribadian adalah sesuatu yang memberi ciri khas bagi pemiliknya, yang membedakannya dengan orang lain. Pendapat Murtadha Muthahhari mengenai struktur kepribadian menekankan unsur manusia diciptakan dari tanah (sisi material manusia) dan ditiupkan oleh Allah kedalamnya ruh-Nya (sisi immaterial manusia) Seperti yang diungkapkan dalam Alquran surat As-sajdah ayat 7-9. Nilai-nilai kemanusiaan (insanniyyah), keutamaan dan kepribadian manusia ini tidak tercipta bersamaan dengan lahirnya manusia ke dunia ini, tetapi manusia itu sendiri yang menciptakannya (jadi bukan dibawa sejak lahir, tetapi melalui usaha dari manusia itu sendiri). Manusia berupa potensi, tergantung bagaimana mengaktualisasikan potensi tersebut, maka kelihatanlah bagaimana kepribadiannya. Dalam al-Qur'an pribadi yang sehat adalah pribadi yang mampu mengatur diri dalam hubungannya terhadap diri sendiri, orang lain, dan lingkungan sosial, juga

menerangkan pribadi yang mampu mengatur diri dalam hubungannya dengan Allah swt. (Effendi, 2011).

Pada ayat diatas telah dijelaskan bahwa Allah (menyempurnakan dan meniupkan roh (ciptaan)-Nya) memberi kehidupan bagi manusia, sama halnya dengan salah satu organ dalam tubuh kita yaitu paru-paru, yang merupakan organ penting untuk pernapasan. Kemudian (Dia menjadikan bagi kamu pendengaran penglihatan dan hati) untuk membentuk kepribadiannya, bukan dibawa sejak lahir tetapi melalui usaha dari manusia itu sendiri. Kepribadian yang memberi ciri khas bagi pemiliknya. Bagi orang-orang yang bersyukur memiliki kepribadian yang baik, taat kepada Allah, menjaga dengan baik tubuhnya, seperti menjalankan pola hidup yang sehat. Maka orang-orang yang kurang bersyukur ((tetapi) kamu sedikit sekali bersyukur) tidak memperhatikan pola hidupnya. Ketika seseorang kurang memperhatikan pola hidupnya maka akan dengan mudah terserang oleh penyakit, dalam hal ini adalah penyakit pada sistem pernapasan salah satunya seperti tuberkulosis (TB). Sistem pernapasan yang Allah berikan kepada manusia telah diciptakan dengan baik, hanya saja bagi orang yang kurang bersyukur tidak menyikapi hal ini dengan baik. Jenis pola hidup seperti kurang berolahraga, pemenuhan nutrisi yang buruk, polusi diri (tembakau, obat-obatan) dan polusi lingkungan, seperti itulah representasi perilaku orang-orang yang kurang bersyukur atas kesempurnaan penciptaan manusia oleh Allah swt.

Mycobacterium adalah salah satu bakteri yang banyak ditemukan di masyarakat. Salah satu spesiesnya adalah *Mycobacterium tuberculosis* yang dapat

menularkan bakteri *tuberculosis* melalui udara, percikan dahak, atau ludah yang terinfeksi oleh bakteri *tuberculosis*. Menurut Sommer dan Good dalam buku *Journal of Clinical* tahun 1980, dilakukan kajian tentang Klasifikasi *Mycobacteria*, pada masing-masing kelompok terdiri dari Divisio, Class, Family, Genus, dan spesies. Pada bagian spesies ini banyak ditemukan macam dan ragam dari koloninya, dan juga kehidupannya dipengaruhi dengan sifat asam atau basa pada media yang ditumbuhinya. Jika dilakukan pembiakan di laboratorium maka akan tampak perbedaan koloni serta sifat pertumbuhannya, hal ini juga dipengaruhi oleh suhu dan pH pertumbuhan koloni (Girsang, 2013).

TB di seluruh dunia telah menyebabkan suatu penyakit, diperkirakan 9,6 juta yakni pada tahun 2014 yaitu 5,4 juta orang, 3,2 juta perempuan dan 1,0 juta anak-anak. Pada tahun 2014, 6 juta kasus baru TB dilaporkan WHO, kurang dari dua pertiga (63%) dari 9,6 juta orang diperkirakan telah jatuh sakit. Dari 480.000 kasus yang menderita TB yang diperkirakan terjadi pada tahun 2014, hanya sekitar seperempat dari 123.000 yang terdeteksi dan dilaporkan. Secara global, hanya 50% dari pasien yang menderita TB berhasil diobati. Namun, tahun 2015 sasaran pengobatan mencapai keberhasilan $\geq 75\%$ untuk pasien dengan penderita TB dan dicapai oleh 43 dari 127 negara serta wilayah yang melaporkan hasil untuk tahun 2012, termasuk tiga negara dengan angka penderita TB tertinggi (Estonia, Ethiopia dan Myanmar) (WHO, 2015).

Di Indonesia, angka yang menunjukkan jumlah penduduk pasien TB yang ditemukan, tercatat di 100.000 penduduk pada suatu wilayah. Berdasarkan data ini

ditemukan bahwa angka penemuan penderita TB di wilayah Indonesia sebanyak 135 kasus/100.000 penduduk yang terkena penyakit ini (Kemenkes, 2015).

Provinsi Sulawesi Selatan, ditemukan sebanyak 147 kasus penduduk yang menderita penyakit TB. Khusus di Kota Makassar, berdasarkan data yang diperoleh dari Bidang Bina Pencegahan Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Dinas Kesehatan Kota Makassar, angka penemuan penderita baru TB Paru BTA (+) tahun 2013 sebanyak 72,44% (ditemukan 1.811 penderita dari sebanyak 2.500 sasaran), jumlah ini meningkat dari tahun 2012 dengan jumlah penderita sebanyak 1.324 dari 1.641 sasaran. Jika dibandingkan target 2013 sebesar 70% maka tingkat capaian melebihi target dengan persentase capaian 72,44%. Penemuan penyakit TB dilakukan oleh pengelola TB masing-masing puskesmas melalui pelacakan/pencarian kasus baru, pelacakan penderita *mangkir* dan pemeriksaan kontak (Kemenkes, 2015 dan Dinkes Makassar, 2014).

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit manusia tertua dengan kematian tertinggi di antara penyakit infeksi. Demikian pula kematian tinggi di seluruh dunia, diperkirakan dua juta orang mati setiap tahun. Diagnosis tuberkulosis pada anak sulit dikonfirmasi sehingga pada umumnya berdasarkan manifestasi klinis, gejala, dan pemeriksaan khusus. Pada dasarnya diagnosis TB ditegakkan berdasarkan pemeriksaan sputum dan biakan. Namun, sensitivitas pemeriksaan sputum terhadap bakteri tahan asam rendah dan biakan sputum mudah berubah-ubah. Uji diagnosis baru untuk TB berdasarkan pada uji tuberkulin mempunyai spesifisitas rendah.

Vaksinasi BCG dan paparan dengan *Mycobacteria nontuberculosis* menghasilkan respons yang sama dengan paparan *M. tuberculosis* (Kusuma, 2007).

Tuberkulosis adalah penyakit radang parenkim paru karena infeksi bakteri *M. tuberculosis*. Tuberkulosis paru termasuk suatu pneumonia, yaitu pneumonia yang disebabkan oleh *M. tuberculosis*. Tuberkulosis paru mencakup 80% dari keseluruhan kejadian penyakit tuberkulosis, sedangkan 20% selebihnya merupakan tuberkulosis ekstrapulmonar. Diperkirakan bahwa sepertiga penduduk dunia pernah terinfeksi bakteri *M. tuberculosis* (Darmanto, 2009).

Infeksi TB laten adalah suatu keadaan seorang terinfeksi TB namun tidak didapatkan bukti klinis maupun mikrobiologis sakit TB. Diagnosis dan penatalaksanaan TB laten merupakan salah satu tantangan pemberantasan TB karena tidak ada bukti klinis dan mikrobiologis, namun pada populasi dengan TB laten, 10% akan berkembang menjadi TB aktif. Seseorang dengan TB laten, risiko menjadi TB aktif lebih tinggi apabila terjadi perubahan secara klinis, epidemiologis atau gambaran radiologis (Robert et al, 2002).

Ketika seseorang terinfeksi TB laten, dapat berkembang menjadi TB aktif. Perkembangan infeksi *M. tuberculosis* menjadi tuberkulosis aktif dalam inang dapat dibagi dalam 5 tahap. Tahap pertama, *droplet nuclei* terhirup oleh manusia dimana satu *droplet nuclei* mengandung tidak lebih dari 3 basil bakteri. Tahap kedua dimulai 7-21 hari setelah terinfeksi, *M. tuberculosis* memperbanyak diri dalam makrofag yang tidak aktif, sampai makrofag tersebut pecah. Pada tahap ketiga terbentuk respon imun selular. Limfosit khususnya sel T, mengenali antigen dengan bantuan molekul *Major*

Histocompatibility Complex (MHC) selanjutnya akan terjadi aktivitas sel T dan pembelahan sitokin yaitu interferon gamma (IFN- γ). Pada tahap keempat terjadi pertumbuhan tuberkuli. Walaupun banyak terdapat makrofag aktif disekitar tuberkuli, juga banyak terdapat makrofag yang tidak atau kurang aktif. *M. tuberculosis* menggunakan makrofag tidak atau kurang aktif ini untuk bereplikasi sehingga tuberkuli dapat tumbuh dan menyerang bronkhus menyebabkan infeksi *M. tuberculosis* dapat menyebar ke bagian lain paru-paru. Pada tahap kelima, *caseous centers* tuberkuli mencair dengan alasan yang tidak diketahui. Cairan ini sangat mendukung pertumbuhan *M. tuberculosis* dan *M. tuberculosis* mulai memperbanyak diri secara ekstrasel dengan cepat. Jumlah *M. tuberculosis* yang banyak akan menyebabkan lapisan jaringan terdekat dengan bronkhi mengalami nekrosis dan rusak, menimbulkan rongga dan menyebabkan *M. tuberculosis* dapat menyebar ke udara dan bagian lain paru-paru (Todar, 2005).

Keluhan yang dirasakan pasien tuberkulosis dapat bermacam-macam atau malah banyak pasien ditemukan TB paru tanpa keluhan sama sekali dalam pemeriksaan kesehatan. Keluhan yang terbanyak seperti, demam yang menyerupai influenza, kadang panas badan dapat mencapai 40-41°C. batuk/batuk darah terjadi karena adanya iritasi pada bronkus. Sesak nafas pada penyakit yang sudah lanjut. Nyeri dada timbul bila infiltrasi radang sudah sampai ke pleura sehingga menimbulkan pleuritis. Dan gejala *malaise* sering ditemukan berupa anoreksia tidak

ada nafsu makan, badan makin kurus (berat badan turun), sakit kepala, meriang, nyeri otot, keringat malam dll (Aru dkk, 2009).

Robert Koch mengidentifikasi basil tahan asam *M. tuberculosis* untuk pertama kali sebagai bakteri penyebab TB ini. Ia menunjukkan bahwa basil ini bisa dipindahkan kepada binatang yang rentan, yang akan memenuhi kriteria postulat Koch yang merupakan prinsip utama dari patogenesis microbial. Selanjutnya menggambarkan suatu percobaan yang memakai *guineapig*, untuk memastikan observasinya yang pertama yang menggambarkan bahwa imunitas didapat mengikuti infeksi primer sebagai suatu fenomena Koch. Konsep dari pada imunitas yang didapat (*acquired immunity*) diperhatikan dengan pengembangan vaksin TB, suatu vaksin yang sangat sukses, yaitu vaksin *Bacillus Calmette Guerin* (BCG) dibuat dari suatu strain Mikobakteriun Bovis, vaksinini ditemukan oleh Albert Calmette dan Camille Guerin di Institut Pasteur Perancis dan diberikan pertama kali kemandusia pada tahun 1921 (WHO, 2000).

Berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan penelitian dengan judul “Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Sampel Darah Asal Suspek TB laten dengan Menggunakan Metode PCR” yang akan membuktikan adanya *M. tuberculosis* penyebab TB paru.

B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu apakah *Mycobacterium tuberculosis* terdapat pada darah TB laten dengan menggunakan metode PCR?

C. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada darah kontak serumah penderita TB positif dengan menggunakan metode PCR yang dilaksanakan pada bulan April-Juni 2017 di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin.

D. Kajian Pustaka / Penelitian Terdahulu

1. Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Oleh F. Suhadi, Dadang Sudrajat dan Maria Lina R, Pusat Pendidikan dan Lalihan-Batan, Jakarta. Penelitian ini bertujuan Tujuan penelitian ini adalah mengembangkan cara deteksi *M tuberculosis* dalam sampel klinis berdasarkan teknik PCR. Pada tahap ini akan dilakukan pengujian DNA *M. tuberculosis* dengan teknik PCR, yaitu dengan melakukan amplifikasi DNA *M tuberculosis* dengan menggunakan tiga pasangan primer yang sudah dipasarkan, untuk mengetahui spesifitas dan sensitifitasnya. Hasil penelitian tersebut telah dilakukan deteksi DNA dari bakteri patogen *M. tuberculosis* dengan cara *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan tiga pasang primer yang diperoleh dari sekwens spesifik berulang DNA mycobacteria. Hasil deteksi menunjukkan spesifik untuk *M. tuberculosis* dan dapat mendeteksi kandungan DNA kurang dari 10^{-9} g.

2. *Diagnosis Dini Tuberkulosis pada Kontak Serumah dengan Penderita Tuberkulosis Paru melalui Deteksi Kadar IFN- γ . Oleh Sri Andarini Indreswari dan Suharyo, Program Studi Kesehatan Masyarakat Fakultas Kesehatan Universitas Dian Nuswantoro Semarang.* Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh batas kadar interferon (IFN) γ pada orang kontak serumah dengan penderita tuberkulosis paru sebagai dasar diagnosis dini penyakit tuberkulosis. Penelitian dilakukan secara kohort selama dua tahun (2011 - 2013) di Balai Kesehatan Masyarakat Paru Semarang. Pada akhir penelitian, terdapat 12 responden kontak dan 13 tidak kontak serumah. Uji Wilcoxon menunjukkan perbedaan bermakna rerata kadar IFN- γ antara kelompok kontak dengan kelompok tidak kontak serumah (nilai $p= 0,004$). Rerata kadar IFN- γ pada kontak serumah mengalami penurunan pada sebagian besar kasus (75%). Pada kelompok kontak serumah, 25% menunjukkan gejala klinis suspek tuberkulosis paru. Pemeriksaan mikrobiologis menunjukkan 100% negatif pada kedua kelompok.
3. *Detection Of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* In Sputum and Blood Samples Of Human.* Oleh A. Nawaz, Z.I. Chaudhry, M. Shahid, S. Gul, F. A. Khan and M. Hussain department of Pathology, University of Veterinary and Animal Sciences, Lahore, Pakistan. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan 100 darah dan 100 sampel dahak dari pasien yang dicurigai TB aktif, menggunakan PCR Duplex dan metode

konvensional untuk mendeteksi *M. bovis* dan *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). *M. tuberculosis*, gen *pncA* dan fragmen spesifik 500-bp *M. bovis* ditargetkan pada PCR Duplex. Pada sampel sputum 37% menunjukkan adanya *M. tuberculosis* sedangkan 05% positif untuk sampel *M. bovis* menggunakan PCR dupleks. Sampel darah, 39% dan 04% positif untuk *M. tuberculosis* dan *M. bovis* masing-masing melalui PCR. Bakteri cepatasam (AFB) pada 23% sampel sputum 08% darah dengan pewarnaan Ziehl-Neelsen. 11% pada biakan sputum dan 09% sampel darah ditemukan positif. Sensitivitas dan spesifisitas PCR Duplex ditemukan secara statistik signifikan dibandingkan dengan metode konvensional untuk diagnosis banding tuberculosis yang disebabkan oleh *M. tuberculosis* dan *M. bovis*.

4. Incidence of Isolation of *Mycobacterium tuberculosis* from Blood Samples in Tuberculosis Patients in Imam Khomeini Hospital, Tehran, Iran. Oleh Maryam Foroughi et al, University of Medical Sciences, Tehran, Iran dan University of Southern California, Los Angeles, USA. Studi ini dilakukan sebagai kolaborasi dari departemen Penyakit Menular di Rumah Sakit Imam Khomeini dengan departemen Mikrobiologi. Dari Tehran University of Medical Sciences. Dataset rumah sakit dari 94 pasien yang dirawat dengan TB selama tahun 2003-2005 telah ditinjau. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari faktor-faktor yang berkorelasi dengan kultur darah positif termasuk usia, jenis kelamin, status defisiensi imun, status HIV dan status SIRS (*Systemic Inflammatory Response Syndrome*). Dalam penelitian ini,

ditemukan bahwa kultur darah positif lebih sering terjadi pada pasien berusia kurang dari 45 tahun. Kultur darah positif juga lebih sering terjadi pada pasien terinfeksi HIV dan ada hubungan yang signifikan antara status kultur darah dan SIRS.

5. Differentiation of Sarcoidosis From Tuberculosis Using Real-Time PCR Assay For The Detection and Quantification of *Mycobacterium tuberculosis*. Oleh Y. Zhou, H. Zheng, R.X. Zhang, G. Chen and R.P. Baughman, Tongji University, Shanghai, China and University of Cincinnati Medical Center, Cincinnati, OH, USA. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi kemampuan kuantifikasi PCR real-time dan menetapkan nilai kuantitatif untuk membedakan sarkoidosis dari TB. Metode: Bagian spesimen biopsi formalin-tetap dan parafin, dari 104 pasien dengan sarkoidosis, 31 pasien dengan tuberkulosis, dan 55 kontrol dengan penyakit pernapasan lainnya (26 dengan limfadenitis nonspesifik dan 29 dengan emphysema bullae), dikumpulkan untuk memperkuat urutan penyisipan IS986 genome *M. tuberculosis* (MTB) dengan real-time quantitative PCR. Hasil dari penelitian ini dideteksi DNA *M. tuberculosis* 20 dari 104 sampel sarkoidosis dan 7 dari 55 kontrol sampel, dan dari 31 sampel tuberkulosis dideteksi semua DNA *M. tuberculosis*. Kuantifikasi real-time PCR merupakan tes yang baik untuk membedakan antara sarkaidosis dan tuberkulosis. Genome *M. tuberculosis* memiliki nomor copian $1,14 \times 10^3$ per ml sebagai perbedaan yang digunakan pada nilai quantitative cutoff.

6. In Situ PCR for *Mycobacterium tuberculosis* in Endoscopic Mucosal Biopsy Specimens of Interstinal Tuberculosis and Crohn Disease. Oleh Anna B. Pulimood, Shajam Peter, Graham W.A. Rook and Helen D. Donoghue. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi penggunaan in situ *polymerase chain reaction* (PCR) dengan menggunakan primer spesifik kompleks *M. tuberculosis* untuk IS6110 untuk membedakan 2 kelainan ini pada spesimen biopsi mukosa arsip. In situ PCR positif pada 6 dari 20 spesimen biopsi tuberkulosis dan 1 dari 20 spesimen biakan penyakit Crohn. Pewarnaan dilokalisasi ke lokasi peradangan granulomatosa pada 3 spesimen tuberkulosis dan spesimen penyakit Crohn. Pada spesimen biopsi tuberkulosis lainnya, pewarnaan positif dilokalisasi ke jaringan granulasi inflamasi dan fokus mukosa utuh tanpa peradangan granulomatosa. Kehadiran DNA *M. tuberculosis* pada penyakit Crohn bisa disebabkan oleh tuberkulosis laten yang ada atau mengindikasikan peran bakteri ini dalam memicu respons kekebalan abnormal. Oleh karena itu, PCR in situ berpotensi berguna untuk membedakan tuberkulosis usus dari penyakit Crohn, jika sensitivitasnya membaik.
7. Molecular Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in Sputum With *Polymerase Chain Reaction*. Oleh P.B. Notopuro, J. Nugraha, dan H. Notopuro, Departemen Patologi FK-UNAIR. Penelitian dilakukan dari bulan September 2006 sampai Juli 2007. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai diagnostik *Polymerase Chain Reaction* untuk mendeteksi *M.*

tuberculosis pada sputum. Sputum dikumpulkan dari dua puluh delapan pasien yang dicurigai TBC berdasarkan pemeriksaan klinis dan radiologis. penelitian ini melakukan teknik kultur konvensional sebagai teknik standar emas diagnostik dan teknik molekuler untuk mendeteksi *M. tuberculosis* dalam dahak. Untuk teknik molekuler, penelitian ini menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan satu set primer wilayah IS6110 yang spesifik untuk *M. tuberculosis* Complex. Sensitivitas PCR dengan primer IS6110 primer adalah 100% (sangat tinggi), spesifisitas 82,4% (tinggi), nilai prediksi positif 89,7% dan nilai prediksi negatif adalah 100%. Secara statistik tidak ada perbedaan yang signifikan antara hasil PCR dan metode kultur konvensional. Berdasarkan hasil tersebut, pemeriksaan Rantai Berantai *Polymerase* dengan primer IS6110 primer dapat digunakan sebagai alat skrining untuk infeksi tuberkulosis, sedangkan klinisi menunggu hasil kultur.

E. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui adanya *Mycobacterium tuberculosis* pada TB laten dengan menggunakan metode PCR.

F. Kegunaan Penelitian

1. Membuktikan adanya *Mycobacterium tuberculosis* sebagai penyebab TB paru yang dideteksi dengan menggunakan metode PCR dari darah kontak serumah penderita TB positif.
2. Kondisi optimum PCR yang didapatkan menjadi acuan untuk penelitian selanjutnya mengenai analisa *Mycobacterium tuberculosis*.



BAB II

TINJAUAN TEORITIS

A. Ayat yang Relevan

Dalam al-Qur'an Allah telah menjelaskan bahwa pada dasarnya sumber penyakit itu datangnya dari diri sendiri. Seseorang yang melakukan perbuatan kafir maka dengan mudah masuklah jin kafir/setan/bakteri (bakteri)/virus ke tubuh. Sebagaimana dalam ayat al-Qur'an surah Al-Baqarah/7:2 yang berbunyi:

حَتَمَ اللَّهُ عَلَىٰ قُلُوبِهِمْ وَعَلَىٰ سَمْعِهِمْ وَعَلَىٰ أَبْصَارِهِمْ غِشْوَةً وَلَهُمْ عَذَابٌ عَظِيمٌ ﴿٧﴾

Terjemahnya:

Allah telah mengunci-mati hati dan pendengaran mereka, dan penglihatan mereka ditutup. dan bagi mereka siksa yang Amat berat (Kementrian Agama RI, 2012).

Mengenai Firman-Nya, *khatamallaahu*, as-Suddi mengatan artinya: bahwa Allah *Tabaraka wa Ta'ala* telah mengunci-Mati. Kalimat di sini berarti “ketetapan”. Maksud ayat ini adalah orang-orang yang telah ditetapkan Allah dalam Lauhul Mahfuzh bahwa mereka akan mati dalam keadaan kafir, selamanya tidak akan beriman. Qatadah mengatakan “syaitan telah menguasai mereka karena mereka telah menaatinya. Maka Allah mengunci-mati hati, dan pendengaran, serta pandangan mereka ditutup, sehingga mereka tidak dapat melihat petunjuk, tidak dapat mendengarkan, memahami, dan berfikir”. Al-A'masy mengatakan, Mujahid mengisyaratkan kepada kami dengan tangannya, lalu ia menuturkan, mereka

mengetahui bahwa hati itu seperti ini, yaitu telapak tangan. Jika seseorang berbuat dosa, maka dosa itu menutupinya, sambil membengkokkan jari kelingkingnya, ia (Mujahid) mengatakan, “Seperti ini.” Jika ia berbuat dosa lagi, maka dosa itu menutupinya, Mujahid membengkokkan jarinya yang lain ke telapak tangannya. Demikian selanjutnya hingga seluruh jari-jarinya menutup telapak tangannya. Setelah itu Mujahid mengatakan, “Hati mereka itu terkunci mati”. Perbandingannya adalah sebagaimana kunci mati terhadap sesuatu yang dapat kita lihat dengan mata, tidak dapat dibuka dan diambil isinya kecuali dengan memecahkan dan membongkar kunci mati dari barang itu. Demikian halnya dengan iman, ia tidak akan sampai ke dalam hati orang yang telah terkunci mati hati dan pendengarannya, kecuali dengan membongkar dan melepas kunci mati tersebut dari hatinya (Tafsir Ibnu Katsir, 2004).

(Allah mengunci mati hati mereka) maksudnya menutup rapat hati mereka sehingga tidak dapat dimasuki oleh kebaikan (begitu pun pendengaran mereka) maksudnya alat-alat atau sumber-sumber pendengaran mereka dikunci sehingga mereka tidak memperoleh manfaat dari kebenaran yang mereka terima (sedangkan penglihatan mereka ditutup) dengan penutup yang menutupinya sehingga mereka tidak dapat melihat kebenaran (dan bagi mereka siksa yang besar) yang berat lagi tetap. Terhadap orang-orang munafik diturunkan (Tafsir Jalalain, 1990).

Mereka adalah golongan yang telah dikuasai oleh sikap ingkar (kufr), hingga hati mereka seolah tertutup oleh sekat yang tidak akan pernah dimasuki sesuatu pun. Pendengaran mereka terkunci, hingga tak sanggup mendengarkan kebenaran. Penglihatan mereka terhalang, hingga tak mampu melihat tanda-tanda kekuasaan

Tuhan yang akan menuntun kepada keimanan. Oleh sebab itulah mereka pantas menerima siksa yang keras (Quraish Shihab, 2002).

Ayat di atas menjelaskan bahwa pada saat manusia melakukan kekafiran maka pada saat itu lepaslah iman di hatinya, (Allah mengunci mati hati mereka) sehingga tidak dapat dimasuki oleh hal-hal yang baik, karena tidak ada pertahanan dari tubuh manusia tersebut. Iman yang lemah akan dengan mudahnya dipengaruhi oleh jin dan setan. Kaitan ayat diatas dengan penelitian ini yaitu adanya jin dan setan yang dapat diartikan sebagai virus dan bakteri karena memiliki sifat yang sama yaitu sangat halus sehingga tidak dapat dilihat dengan kasat mata. Mereka termasuk golongan orang-orang yang dikuasai oleh sifat ingkar (dan bagi mereka siksa yang amat berat) maksudnya apabila manusia melakukan kekafiran maka hati (jiwa) sudah tidak bisa lagi menjadi filter yang baik sehingga mengakibatkan darah yang ke otak telah terkontaminasi oleh virus/bakteri (jin kafir dan setan) inilah penyebab penyakit. Salah satu penyakit yang berkaitan diangkat dari ayat di atas yaitu TB paru, penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Seperti halnya pada ayat di atas dapat dianalogikan kepada penyakit TB paru itu sendiri, dimana pada saat paru manusia telah dikuasai/mengidap TB bisa saja dikunci mati apabila tingkatan penyakitnya makin kronis. Tetapi jika dilakukan penanganan yang baik dan tepat, penyakit ini dapat disembuhkan dan dapat pulih kembali sebelum mencapai titik kunci mati seperti yang disebut pada ayat di atas.

B. Tinjauan Umum *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis berbentuk batang lurus atau sedikit melengkung, tidak berspora dan tidak berkapsul. Bakteri ini berukuran lebar 0.3 – 0,6µm. Dinding *M. tuberculosis* sangat kompleks, terdiri dari lapisan lemak cukup tinggi (60%) (PDPI, 2002).

Penyusun utama dinding sel *M. tuberculosis* ialah asam mikolat, lilin kompleks (complex-waxes), trehalosa dimikolat yang disebut *cord factor*, dan *mycobacterial sulfolipids* yang berperan dalam virulensi. Asam mikolat merupakan asam lemak berantai panjang (C60 – C90) yang dihubungkan dengan arabinogalaktan oleh ikatan glikolipid dan dengan peptidoglikan oleh jembatan fosfodiester. Unsur lain yang terdapat pada dinding sel bakteri tersebut adalah polisakarida seperti arabinogalaktan dan arabinomanan. Struktur dinding sel yang kompleks tersebut menyebabkan bakteri *M. tuberculosis* bersifat tahan asam, yaitu apabila sekali diwarnai akan tetap tahan terhadap upaya penghilangan zat warna tersebut dengan larutan asam – alkohol (PDPI, 2002).

M. tuberculosis tidak dapat diwarnai dengan cara Gram, tetapi dengan pewarnaan tahan asam. Dibandingkan dengan bakteri lainnya, golongan *Mycobacterium* tahan terhadap asam dan alkali sehingga apabila bahan spesimen mengandung bakteri lain mudah dapat dibunuh sehingga spesimen menjadi lebih murni. Tetapi harus diperhatikan kepekatan zat asam dan alkali karena terlalu pekat juga akan membunuh *Mycobacterium* (Utji dkk, 1994).

Basil *Mycobacterium* mengandung banyak bahan yang bersifat antigenik bagi pasien. Sebagian besar antigen ini adalah golongan *heatshock* protein. Terdapat beberapa antigen yang spesifik untuk spesies *M. tuberculosis* berasal dari golongan protein yang mempunyai berat molekul 35.000 dalton. Limfosit T dan limfosit B akan merespon antigen yang spesifik ini. Protein pembentuk antigen ini bukan komponen terbesar pembentuk mikroorganisme, tetapi hanya satu bahan yang disekresi oleh basil TB saat pertumbuhannya yang ditemukan pada permukaan sel dan mempunyai sifat-sifat yang sangat penting untuk imunodiagnosis dan juga untuk membentuk sistem imunitas. Dinding sel basil TB merupakan struktur yang sangat kompleks dan mempunyai banyak elemen. Di lapisan luar dinding sel ditemukan suatu lipid yang terbentuk dari asam mikolat (*micolic acid*) berantai panjang. Asam mikolat ini mengalami esterifikasi sehingga terdapat tiga elemen dinding basil TB, yaitu lipid yang berasal dari asam mikolat, arabinogalaktan, serta muramil dipeptida (Darmanto, 2009).

Sebagian besar dinding bakteri terdiri atas asam lemak (lipid), kemudian peptidoglikan dan arabinomannan. Lipid inilah yang membuat bakteri lebih tahan terhadap asam (asam alkohol) sehingga disebut bakteri tahan asam (BTA) dan ia juga lebih tahan terhadap gangguan kimia dan fisis. Bakteri dapat tahan hidup pada udara kering maupun dalam keadaan dingin (dapat tahan bertahun-tahun dalam lemari es). Hal ini terjadi karena bakteri berada dalam sifat *dormant*. Dari sifat *dormant* ini bakteri dapat bangkit kembali dan menjadi penyakit tuberkulosis menjadi aktif lagi (Waksman, 1999).

Sifat lain bakteri ini adalah aerob. Sifat ini menunjukkan bahwa bakteri lebih menyukai jaringan yang tinggi kandungan oksigennya. Dalam hal ini tekanan oksigen pada bagian apikal paru-paru lebih tinggi dari bagian lain, sehingga bagian apikal ini merupakan tempat predileksi penyakit tuberkulosis (Aru dkk, 2009).

Daya tahan *M. tuberculosis* lebih besar apabila dibandingkan dengan bakteri lainnya karena sifat hidrofobik permukaan sel. Malakhit hijau dapat membunuh bakteri lain tetapi tidak membunuh *M. tuberculosis*, demikian juga dengan alkali. Dengan fenol 5% diperlukan waktu 24 jam untuk membunuh *M. tuberculosis*. Basil ini dihancurkan oleh iodium tinktur dalam 5 menit, dengan alkohol 80% akan hancur dalam 2-10 menit (Ruswanto, 2010).

C. Tinjauan Umum TB Laten/TB Paru

Infeksi TB laten adalah suatu keadaan seorang terinfeksi TB namun tidak didapatkan bukti klinis maupun mikrobiologis sakit TB. Orang dengan infeksi TB laten tidak merasa sakit dan tidak memiliki gejala apapun. Mereka terinfeksi *M. tuberculosis*, tetapi tidak memiliki penyakit TB. Orang dengan infeksi TB laten tidak menular dan tidak dapat menyebarkan infeksi TB kepada orang lain (Robert et al, 2002).

Ketika seseorang terinfeksi TB laten, dapat berkembang menjadi TB aktif. Perkembangan infeksi *M. tuberculosis* menjadi tuberkulosis aktif dalam inang dapat dibagi dalam 5 tahap. Tahap pertama, *droplet nuclei* terhirup oleh manusia dimana satu *droplet nuclei* mengandung tidak lebih dari 3 basil bakteri. *Droplet nuclei* dapat

dihasilkan selama berbicara, batuk dan bersin. Satu kali batuk, berbicara selama 5 menit dan menyanyi selama 1 menit dapat menyebarkan 3000 *droplet nuclei*, sedangkan bersin dapat menyebarkan *droplet nuclei* sejauh 3 meter (Todar, 2005).

Tahap kedua dimulai 7-21 hari setelah terinfeksi, *M. tuberculosis* memperbanyak diri dalam makrofag yang tidak aktif, sampai makrofag tersebut pecah. Kemudian makrofag lain yang aktif mulai muncul dari sistem darah tepi dan memfagositosis *M. tuberculosis*, tetapi akhirnya makrofag ini juga kembali tidak aktif sehingga tidak dapat memusnakan *M. tuberculosis* (Todar, 2005).

Pada tahap ketiga terbentuk respon imun selular. Limfosit khususnya sel T, mengenali antigen dengan bantuan molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) selanjutnya akan terjadi aktivitas sel T dan pembelahan sitokin yaitu interferon gamma ($\text{IFN-}\gamma$). Pembebasan $\text{IFN}\gamma$ akan mengaktifasi makrofag dan makrofag yang teraktifasi inilah yang mampu memusnakan *M. tuberculosis*. Pada tahap ketiga ini juga terbentuk tuberkuli dan *M. tuberculosis* tidak dapat memperbanyak diri dalam keadaan tuberkuli, karena pH sangat rendah dan jumlah oksigen terbatas. *M. tuberculosis* dapat tahan dalam keadaan tuberkuli selama periode waktu tertentu (Todar, 2005).

Pada tahap keempat terjadi pertumbuhan tuberkuli. Walaupun banyak terdapat makrofag aktif disekitar tuberkuli, juga banyak terdapat makrofag yang tidak atau kurang aktif. *M. tuberculosis* menggunakan makrofag tidak atau kurang aktif ini untuk bereplikasi sehingga tuberkuli dapat tumbuh dan menyerang bronkhus

menyebabkan infeksi *M. tuberculosis* dapat menyebar ke bagian lain paru-paru. Tuberkuli juga dapat menyerang arteri atau pembuluh darah lainnya dan menyebabkan tuberkulosis ekstraparu (Todar, 2005).

Pada tahap kelima, *caseous centers* tuberkuli mencair dengan alasan yang tidak diketahui. Cairan ini sangat mendukung pertumbuhan *M. tuberculosis* dan *M. tuberculosis* mulai memperbanyak diri secara ekstrasel dengan cepat. Jumlah *M. tuberculosis* yang banyak akan menyebabkan lapisan jaringan terdekat dengan bronkhi mengalami nekrosis dan rusak, menimbulkan rongga dan menyebabkan *M. tuberculosis* dapat menyebar ke udara dan bagian lain paru-paru (Todar, 2005).

Tuberkulosis paru (TB) adalah suatu penyakit infeksi kronik yang sudah sangat lama dikenal pada manusia, misalnya dia dihubungkan dengan tempat tinggal di daerah urban, lingkungan yang padat, dibuktikan dengan adanya penemuan kerusakan tulang vertebra torak yang khas TB dari kerangka yang digali di Heidelberg dari kuburan zaman neolitikum, begitu juga penemuan yang berasal dari mumi dan ukiran dinding piramid di Mesir kuno pada tahun 2000-4000 SM. Hipokrates telah memperkenalkan terminologi *phthisis* yang diangkat dari bahasa Yunani yang menggambarkan tampilan TB paru ini (WHO, 1999).

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit infeksi menular yang disebabkan oleh *M. tuberculosis*. Bakteri batang aerobik dan tahan asam ini, merupakan organisme patogen maupun saprofit. Ada beberapa mikobakteri patogen, tetapi hanya strain bovin dan manusia yang patogenik terhadap manusia. Basil tuberkel ini berukuran 0,3

x 2 sampai 4 mm, ukuran ini lebih kecil daripada sel darah merah (Anderson dan McCarty, 2005).

Tuberkulosis paru adalah penyakit radang parenkim paru karena infeksi bakteri *M. tuberculosis*. Tuberkulosis paru termasuk suatu pneumonia, yaitu pneumonia yang disebabkan oleh *M. tuberculosis*. Tuberkulosis paru mencakup 80% dari keseluruhan kejadian penyakit tuberkulosis, sedangkan 20% selebihnya merupakan tuberkulosis ekstrapulmonar. Diperkirakan bahwa sepertiga penduduk dunia pernah terinfeksi bakteri *M. tuberculosis* (Darmanto, 2009).

Di Indonesia klasifikasi yang banyak dipakai adalah berdasarkan kelainan klinis, radiologis, dan mikrobiologis :

- Tuberkulosis paru
- Bekas tuberkulosis paru
- Tuberkulosis paru tersangka, yang terbagi dalam: a.) Tuberkulosis paru tersangka yang diobati. Di sini sputum BTA negatif, tetapi tanda-tanda lain positif. b.) Tuberkulosis paru tersangka yang tidak diobati. Di sini sputum BTA negatif dan tanda-tanda lain juga meragukan.

Dalam 2-3 bulan, TB tersangka ini sudah harus dipastikan apakah termasuk TB paru (aktif) atau bekas TB paru. Dalam klasifikasi ini perlu dicantumkan : 1. Status bakteriologi, 2. Mikroskopik sputum BTA (langsung), 3. Biakan sputum BTA, 4. Status radiologis, kelainan yang relevan untuk tuberkulosis paru, 5. Status kemoterapi, riwayat pengobatan dengan obat anti tuberkulosis (Aru dkk, 2009).

1. Etiologi

Penyebab tuberkulosis adalah *M. tuberculosis*, sejenis bakteri berbentuk batang dengan ukuran panjang 1-4/um dan tebal 0,3-0,6/um. Yang tergolong dalam bakteri *M. tuberculosis complex* adalah : 1). *M. tuberculosis*, 2). Varian Asian, 3). Varian African I, 4). Varian African II, 5). *M. bovis*. Pembagian tersebut adalah berdasarkan perbedaan secara epidemiologi (Daniel et al, 1994).

Proses terjadinya infeksi oleh *M. tuberculosis* biasanya secara inhalasi, sehingga TB paru merupakan manifestasi klinis yang paling sering dibanding organ lainnya. Penularan penyakit ini sebagian besar inhalasi basil yang mengandung *droplet nuclei*, khususnya yang didapat dari pasien TB paru dengan batuk berdarah atau berdahak yang mengandung basil tahan asam (BTA). Pada TB kulit atau jaringan lunak penularan bisa melalui inokulasi langsung. Infeksi yang disebabkan oleh *M. bovis* dapat disebabkan oleh susu yang kurang disterilkan dengan baik atau terkontaminasi (Aru dkk, 2009).

2. Epidemiologi

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi yang sejarahnya dapat dilacak sampai ribuan tahun sebelum masehi. Sejak zaman purba, penyakit ini dikenal sebagai penyebab kematian yang menakutkan. Sampai pada saat Robert Koch menemukan penyebabnya, penyakit ini masih termasuk penyakit yang mematikan. Istilah saat itu untuk penyakit yang mematikan ini adalah “*consumption*”. Di Amerika Serikat pada tahun 1915 masih dianut paham bahwa penularan TB adalah melalui

kebiasaan meludah di sembarang tempat dan ditularkan melalui debu dan lalat. Hingga tahun 1960, paham ini masih dianut di Indonesia (Darmanto, 2009).

Alasan utama munculnya atau meningkatnya beban TB global ini antara lain disebabkan : 1. Kemiskinan pada berbagai penduduk, tidak hanya pada Negara yang sedang berkembang tetapi juga pada penduduk perkotaan tertentu dinegara maju. 2. Adanya perubahan demografik dengan meningkatnya penduduk dunia dan perubahan dari struktur usia manusia yang hidup. 3. Perlindungan kesehatan yang tidak mencukupi pada penduduk di kelompok yang rentan terutama di negeri-negeri miskin. 4. Tidak memadainya pendidikan mengenai TB di antara pada dokter. 5. Terlantar dan kurangnya biaya untuk obat, sarana diagnostik, dan pengawasan kasus TB dimana terjadi deteksi dan tatalaksana kasus yang tidak adekuat. 6. Adanya epidemik HIV terutama di Afrika dan Asia (Aru dkk, 2009).

Di Indonesia, TB paru menduduki urutan ke-4 untuk angka kesakitan sedangkan sebagai penyebab kematian menduduki urutan ke-5, menyerang sebagian besar kelompok usia produktif dari kelompok sosioekonomi lemah. Walaupun upaya memberantas TB telah dilakukan, tetapi angka insiden maupun prevalensi TB paru di Indonesia tidak pernah turun. Dengan bertambahnya penduduk, bertambah pula jumlah penderita TB paru, dan kini Indonesia adalah Negara peringkat ketiga terbanyak di dunia dalam jumlah penderita tuberkulosis paru. Dengan meningkatnya infeksi HIV/AIDS di Indonesia, penderita TB akan meningkat pula (Darmanto, 2009).

Jika mengingat kerentanan seseorang terhadap TB, dua faktor risiko harus diperiksa: risiko mendapatkan infeksi dan risiko berkembangnya penyakit menjadi klinis aktif setelah timbul infeksi. Risiko mendapatkan infeksi dan berkembangnya klinis penyakit bergantung pada keberadaan infeksi dalam masyarakat, khususnya diantara orang yang terinfeksi HIV; imigran dari daerah prevalensi tinggi TB; ras yang beresiko tinggi dan kelompok etnis minoritas (misal, Afrika Amerika, Amerika Indian, asli Alaska, Asia, Kepulauan Pasifik dan Hispanik); dan bagi mereka yang menetap di lingkungan yang berisiko tinggi untuk penularan TB, seperti fasilitas-fasilitas perbaikan, penampungan bagi tuna wisma, rumah sakit, dan rumah-rumah perawatan (Anderson dan McCarty, 2005).

3. Patofisiologi

Tempat masuk bakteri *M. tuberculosis* adalah saluran pernapasan, saluran pencernaan (GI), dan luka terbuka pada kulit. Kebanyakan infeksi TB terjadi melalui udara, yaitu melalui inhalasi droplet yang mengandung bakteri-bakteri basil tuberkel yang berasal dari orang yang terinfeksi. Saluran pencernaan merupakan tempat masuk utama bagi jenis bovin, yang penyebarannya melalui susu yang terkontaminasi. Akan tetapi, di Amerika Serikat, dengan luasnya pasteurisasi susu dan deteksi penyakit pada sapi perah, TB bovin ini jarang terjadi (Anderson dan McCarty, 2005).

Penyakit tuberkulosis ditularkan melalui udara secara langsung dari penderita TB kepada orang lain. Dengan demikian, penularan penyakit TB terjadi melalui hubungan dekat antara penderita dan orang yang tertular (terinfeksi), misalnya berada di dalam ruangan tidur atau ruang kerja yang sama. Droplet yang mengandung basil

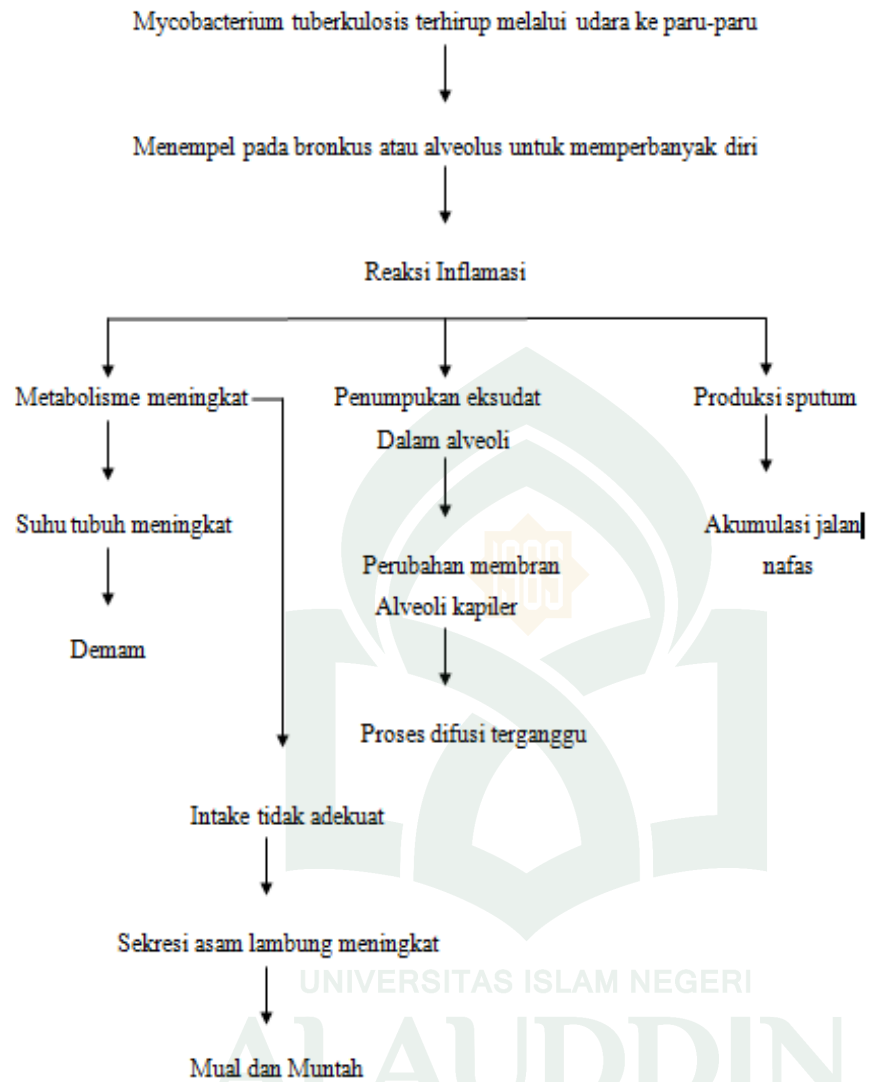
TB yang dihasilkan dari batuk dapat melayang di udara hingga kurang lebih dua jam tergantung pada kualitas ventilasi ruangan. Jika droplet tadi terhirup oleh orang lain yang sehat, droplet akan terdampar pada dinding sistem pernapasan. Droplet besar akan terdampar pada saluran pernapasan bagian atas, droplet kecil akan masuk ke dalam alveoli di lobus mana pun; tidak ada predileksi lokasi terdamparnya droplet kecil. Pada tempat terdamparnya, basil tuberkulosis akan membentuk suatu fokus infeksi primer berupa tempat pembiakan basil tuberkulosis tersebut dan tubuh penderita akan memberikan reaksi inflamasi. Basil TB yang masuk tadi akan mendapatkan perlawanan dari tubuh, jenis perlawanan tubuh tergantung kepada pengalaman tubuh, yaitu pernah mengenal basil TB atau belum (Darmanto. 2009).

Bakteri tuberkulosis yang masuk melalui saluran napas akan bersarang di jaringan paru sehingga akan terbentuk suatu infeksi pneumonik, yang disebut infeksi primer atau efek primer. Dari infeksi primer akan timbul peradangan saluran getah bening menuju hilus (limfangitis lokal). Peradangan tersebut diikuti oleh pembesaran kelenjar getah bening di hilus (limfadenitis regional). Infeksi primer limfangitis lokal bersama dengan limfadenitis regional dikenal sebagai kompleks primer (tuberkulosis). Semua proses ini memakan waktu 3-8 minggu. Kompleks primer tersebut akan mengalami beberapa kemungkinan:

- a. Sembuh dengan tidak meninggalkan cacat sama sekali (*restitution adintegrum*).
- b. Sembuh dengan meninggalkan sedikit bekas (antara lain Ghon, garis fibrotik, infeksi perkapuran di hilus).

- c. Berkomplikasi dan menyebar secara: 1). Perkontinuitatum, yakni menyebar ke sekitarnya, 2). Secara bronkogen pada paru yang bersangkutan maupun paru di sebelahnya. Bakteri dapat juga tertelan bersama sputum dan ludah sehingga menyebar ke usus, 3). Secara limfogen, ke organ tubuh lain-lainnya, 4). Secara hematogen, ke organ tubuh lain (Andyka, 2012).

Bakteri yang *dormant* pada tuberkulosis primer akan muncul bertahun-tahun kemudian sebagai infeksi endogen menjadi tuberkulosis dewasa (tuberkulosis *post primer* = TB pasca primer = TB sekunder). Mayoritas reinfeksi mencapai 90%. Tuberkulosis sekunder terjadi karena imunitas menurun seperti malnutrisi, alkohol, penyakit maligna, diabetes, AIDS, gagal ginjal. Tuberkulosis pasca primer ini dimulai dengan infeksi dini yang berlokasi di region atas paru (bagian apikal-posterior lobus superior atau inferior). Invasinya adalah ke daerah parenkim paru-paru dan tidak ke nodus hiler paru (Aru dkk, 2009).



Gambar 2.1. Skema patofisiologi TB paru (Corwin, 2009).

4. Diagnosis

Penegakan diagnosis pada penyakit TB-paru dapat dilakukan dengan melihat keluhan/gejala klinis, pemeriksaan biakan, pemeriksaan mikroskopis, radiologik dan tuberkulin test. Pada pemeriksaan biakan hasilnya akan didapat lebih baik, namun waktu pemeriksaannya biasanya memakan waktu yang terlalu lama. Sehingga pada saat ini pemeriksaan dahak secara mikroskopis lebih banyak dilakukan karena sensitivitas dan spesivitasnya tinggi disamping biayanya rendah (Hiswani, 2010).

Gejala akibat TB paru adalah batuk produktif yang berkepanjangan (lebih dari 3 minggu), nyeri dada, dan hemoptisis. Gejala sistemik termasuk demam, menggigil, keringat malam, kelemahan, hilangnya nafsu makan, dan penurunan berat badan. Seseorang yang dicurigai menderita TB harus dianjurkan untuk menjalani pemeriksaan fisik, tes tuberkulin Mantoux, foto toraks, dan pemeriksaan bakteriologi atau histologi. Tes tuberkulin harus dilakukan pada semua orang yang dicurigai menderita TB klinis aktif, namun nilai tes tersebut dibatasi oleh reaksi negatif palsu, khususnya pada seseorang dengan imunosupresif (misal, TB dengan infeksi HIV). Seseorang yang diperkirakan memiliki gejala TB, khususnya batuk produktif yang lama dan hemoptisis, harus menjalani foto toraks, walaupun reaksi terhadap tes tuberkulin intradermalnya negatif (Anderson dan McCarty, 2005).

Berdasarkan CDC, kasus TB diperkuat dengan kultur bakteriologi organisme *M. tuberculosis* yang positif. Sangat penting untuk menanyakan orang yang diduga terkena TB tentang riwayat infeksi TB sebelumnya. Harus dipertimbangkan juga faktor-faktor demografi (misal, Negara asal, usia, kelompok etnis atau ras) dan

kondisi kesehatan (misalnya, infeksi HIV) yang mungkin meningkatkan risiko seseorang untuk terkena TB (Anderson dan McCarty, 2005).

Diagnosis dapat ditegakkan melalui anamnesis (*history taking*) dan pemeriksaan fisik, foto toraks, serta hasil pemeriksaan bakteriologik. Diagnosis pasti ditegakkan jika pada pemeriksaan bakteriologik ditemukan *M. tuberculosis* di dalam dahak atau jaringan. Karena usaha untuk menemukan basil TB tidak selalu mudah, maka diupayakan cara untuk dapat membuktikan bahwa terdapat basil TB di dalam tubuh. Cara pembuktiannya adalah melalui pemeriksaan serologi (Darmanto, 2009).

D. PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) adalah teknik *in vitro* yang dapat mengamplifikasi bagian DNA spesifik yang terletak di antara dua bagian DNA yang telah diketahui. PCR merupakan teknik biokimia dan biologi molekuler untuk isolasi dan amplifikasi secara eksponensial fragmen atau urutan sasaran DNA melalui replikasi enzimatik, atau tanpa menggunakan mahluk hidup (seperti *Escherichia coli* atau ragi). Karena PCR merupakan teknik *in vitro*, teknik ini dapat digunakan tanpa memotong DNA dan dapat dimodifikasi secara ekstensif untuk mengikuti aturan luas manipulasi genetik (Fatchiyah, dkk, 2012).

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan teknik molekuler yang digunakan untuk mengamplifikasi suatu urutan DNA yang spesifik pada genom (Arfani et al., 2013). PCR didasarkan pada amplifikasi enzimatik fragmen DNA dengan menggunakan dua oligonukleotida primer yang komplementer dengan ujung

5' dari kedua untai sekuensi target. Oligonukleotida ini digunakan sebagai primer (primer PCR) untuk memungkinkan DNA *template* disalin oleh DNA polymerase (Nasir, 2002).

Strategi optimasi yang dilakukan dalam proses PCR meliputi penambahan jumlah *template* DNA pada formula PCR, variasi suhu *annealing* primer, waktu *annealing* primer. PCR sendiri terdiri dari tiga tahapan berurutan, yaitu pemisahan (*denaturasi*) rantai ganda DNA *template* pada suhu 94-95°C, penempelan (*annealing*) pasangan primer pada utas DNA tunggal target dan pemanjangan (*extension*) primer atau reaksi polimerisasi pada suhu 72°C yang dikatalisis oleh DNA polymerase (Handoyo dan Rudiretna, 2001).

Setiap uji PCR membutuhkan kehadiran DNA *template*, primer, nukleotida, MgCl₂ dan DNA polymerase. DNA polymerase merupakan enzim penting yang menghubungkan nukleotida individu bersama-sama untuk membentuk produk PCR. Nukleotida meliputi empat basa yaitu adenin, timin, sitosin, dan guanine (A, T, C, G) yang terdapat pada DNA. Nukleotida ini bertindak sebagai substrat untuk ditempelkan oleh polymerase untuk mendapatkan produk PCR. MgCl₂ adalah senyawa-senyawa ionik yang berasal dari asam dan basa kuat yang sangat larut dalam air yang penggunaannya dalam formulasi PCR yaitu berfungsi sebagai kofaktor enzim *Taq* polymerase (Garibyan and Avashia, 2013).

Keuntungan menggunakan PCR adalah (1) deteksi dan identifikasi mikroorganisme secara cepat pada frekuensi yang sangat rendah, mikroorganisme

simbiotik, dan individu ikan dan larva avertebrata; (2) analisis cepat genom individu untuk mempelajari populasi; (3) deteksi dan analisis "kejadian langka" yang terjadi pada fraksi sel kecil dalam sampel jaringan atau koleksi lapangan; dan (4) menduga kualitas air melalui deteksi virus, bakteri, dan/atau parasit patogen. Keuntungan lain PCR adalah mengurangi keperluan kultur yang sering ditemukan untuk spesies atau jenis mikroba yang tidak dapat dikultur untuk kepentingan ekologi atau biogeokimia (Wulan, 2013).

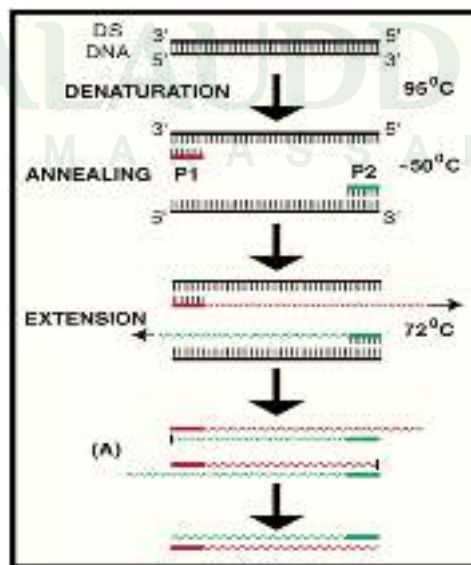
PCR adalah suatu teknik yang melibatkan beberapa tahap yang berulang (siklus) dan pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah target DNA untai ganda (Newton and Graham, 1994).

Menurut Innis (1990) tiga tahapan penting dalam proses PCR:

1. Tahap Inisiasi (*Denaturation*). Sebelum tahap inisiasi reaksi PCR sering dipanaskan pada suhu 94-96°C (atau 98°C jika menggunakan polimerase termostabil), selama 1-9 menit. Ini berguna untuk menjamin banyak cetakan DNA dan primer terdenaturasi yaitu putusnya ikatan hidrogen basa-basa komplemen rantai DNA untuk menghasilkan rantai tunggal DNA. Beberapa polimerase PCR juga membutuhkan kondisi tahap ini untuk aktivasi. Setelah itu, mulai siklus dengan tahap satu pada 94-98°C selama 20-30 detik (tahap denaturasi).
2. Tahap penempelan primer (*Annealing*). Dalam tahap ini suhu diturunkan sehingga primer dapat menempel pada cetakan DNA rantai tunggal. Gerakan Brownian menyebabkan primer bergerak di ikatan hidrogen DNA-DNA yang secara konstan dibentuk dan diputuskan antara dan cetakan. Ikatan stabil hanya terbentuk bila

urutan primer sangat dengan urutan cetakan. Bagian pendek rantai ganda ini dikatalisis oleh polimerase untuk memulai sintesis DNA. pada tahap ini bergantung pada suhu primer dan biasanya antara 50-64°C selama 20-40 detik.

3. Tahap ekstensi/pemanjangan (*Extention*) yaitu polimerase memperpanjang rantai DNA yang komplemen dengan rantai cetakan. Dengan adanya dNTPs (dATP, dCTP, dGTP dan dTTP) dan buffer yang sesuai. Umumnya keadaan ini dilakukan antara 20-40 siklus. Suhu pada tahap ini bergantung pada DNA polimerase yang digunakan. Polimerase Taq mempunyai suhu optimum 70-74°C. Umumnya reaksi ini menggunakan suhu 72°C. DNA polimerase melakukan kondensasi 5'- fosfat dNTP dengan gugus 5'- hidroksil ujung awal rantai DNA yang komplemen dengan cetakan dalam arah 5' ke 3'. Pemanjangan bergantung pada DNA polimerase dan panjang bagian DNA akan diamplifikasi. Tahap elongasi akhir selama 5-15 menit (tergantung panjang cetakan DNA). Suhu dijaga agar tetap berada pada 4-15°C selama waktu terbatas untuk penyimpanan singkat.



Gambar 2.2. Tahapan PCR (Ulphie, 2012).

Apabila ketiga tahap dalam proses PCR telah dilakukan maka setiap satu segmen DNA pita ganda diamplifikasikan menjadi dua segmen DNA pita ganda yang identik, sehingga jumlahnya menjadi dua kali lebih banyak dari jumlah semula. Siklus diulang kembali, mulai lagi dengan denaturasi, penempelan dan ekstensi primer (Mordechai, 1999).

Fungsi DNA *template* di dalam proses PCR adalah sebagai cetakan untuk pembentukan molekul DNA baru yang sama. *Template* DNA ini dapat berupa DNA kromosom, DNA plasmid ataupun fragmen DNA. DNA *template* tersebut mengandung fragmen DNA target yang dituju. Penyiapan DNA templat untuk proses PCR dapat dilakukan dengan menggunakan metode lisis sel ataupun dengan cara melakukan isolasi DNA kromosom atau DNA plasmid dengan menggunakan metode standar yang ada. Pemilihan metode yang digunakan dalam penyiapan DNA *template* tergantung dari tujuan eksperimen. Dengan menggunakan teknik PCR, panjang fragmen DNA yang dapat diamplifikasi mencapai 35 kilo basa. Amplifikasi fragmen DNA pendek (kurang dari tiga kilo basa) relatif lebih mudah dilakukan. Untuk mengamplifikasi fragmen DNA panjang (lebih besar dari tiga kilo basa) memerlukan beberapa kondisi khusus, diantaranya adalah diperlukan polimerase DNA dengan aktivitas yang kuat dan juga *buffer* PCR dengan pH dan kapasitas tinggi (*High-salt buffer*) (Handoyo, 2001).

E. Elektroforesis

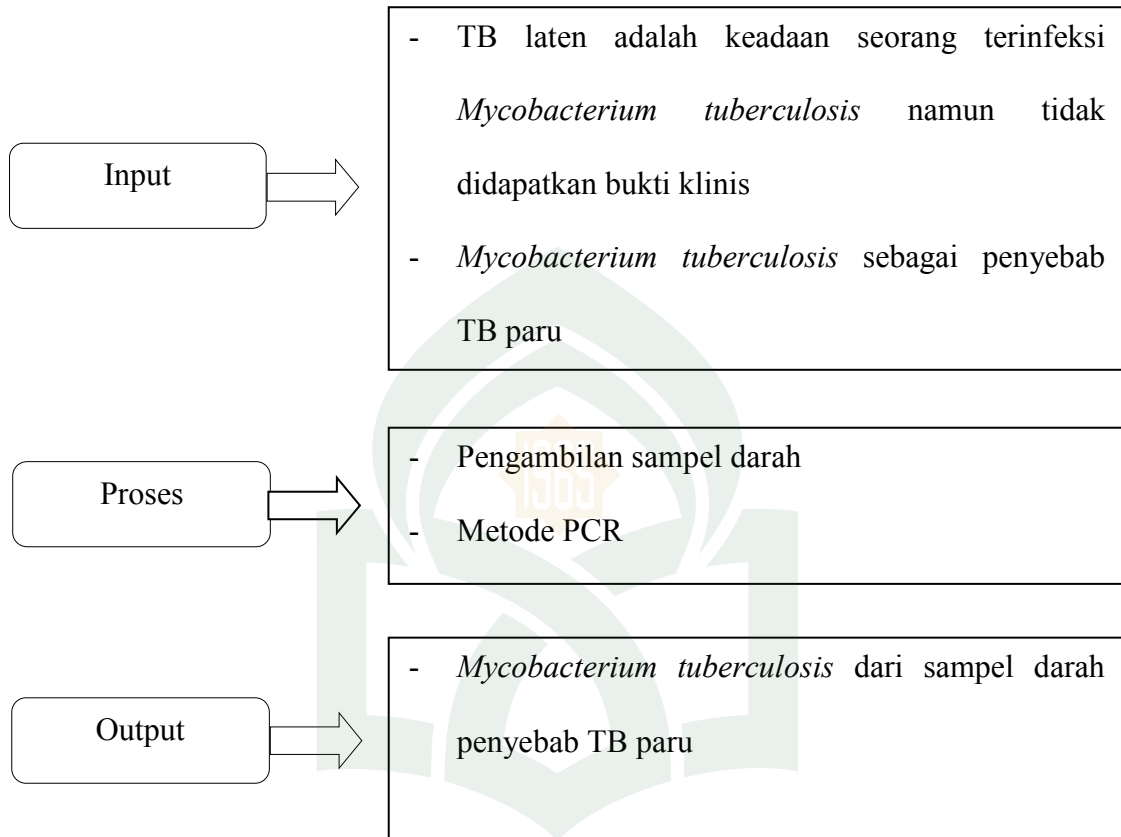
Elektroforesis merupakan pergerakan zat bermuatan listrik akibat adanya pengaruh medan listrik. Molekul DNA termasuk senyawa bermuatan negatif. Sifat ini menjadikan molekul DNA yang ditempatkan pada medan listrik akan bermigrasi menuju kutub positif. Kecepatan migrasi molekul DNA tergantung pada konsentrasi gel yang digunakan, ukuran molekul yang dianalisis, serta tegangan listrik yang diberikan. Salah satu gel yang dapat digunakan pada elektroforesis adalah gel agarosa. Agarosa digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi dan memurnikan fragmen-fragmen DNA (Sambrook, 1989).

Prinsip dasar teknik ini adalah molekul DNA, RNA atau protein dapat dipisahkan berdasarkan laju perpindahannya oleh gaya gerak listrik di dalam matriks gel. Laju perpindahan tersebut bergantung pada ukuran molekulnya. Sampel molekul ditempatkan ke dalam susia pada gel yang ditempatkan di dalam larutan penyangga yaitu TAE (TrisHCl-Aceticacid-EDTA), dan listrik dialirkan sebesar 80 Volt. Molekul-molekul sampel akan bergerak di dalam matriks gel ke arah salah satu kutub listrik sesuai muatannya. RNA dan DNA arah pergerakannya adalah menuju elektroda positif, disebabkan oleh muatan negatif pada rangka gula-fosfat yang dimilikinya (Adijuwana, 1987).

Teknik elektroforesis dapat dibedakan menjadi dua cara, yaitu : elektroforesis larutan (*moving boundary electrophoresis*) dan elektroforesis daerah (*zone electrophoresis*). Pada teknik elektroforesis larutan, larutan penyangga yang mengandung makro-molekul ditempatkan dalam suatu kamar tertutup dan dialiri arus

listrik. Kecepatan migrasi dari makro-molekul diukur dengan jalan melihat terjadinya pemisahan dari molekul (terlihat seperti pita) didalam pelarut. Sedangkan teknik elektroforesis daerah adalah menggunakan suatu bahan padat yang berfungsi sebagai media penunjang yang berisi (diberi) larutan penyangga (Pratiwi, 2014).

Media penunjang yang biasa dipakai adalah gel agarose, gel pati, gel poliakrilamida dan kertas selulose poliasetat. Elektroforesis daerah disebut sebagai elektroforesis gel dengan dua buah model yaitu horizontal dan vertikal. Metode yang biasa digunakan adalah model horizontal, karena mempunyai beberapa keuntungan yaitu peralatan yang digunakan sangat sederhana, relatif murah dan pemisahan untuk enzim tertentu dapat menghasilkan pemisahan yang lebih baik (Sargent and George, 1975).

F. Kerangka Pikir

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Lokasi Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian kualitatif. Penelitian ini dilaksanakan di Labotatorium Mikrobiologi Rumah Sakit Universitas Hasanuddin pada bulan April sampai Juni 2017.

B. Pendekatan Penelitian

Pendekatan penelitian ini merupakan penelitian kualitatif dengan menerapkan prinsip-prinsip pengontrolan terhadap hal-hal yang mempengaruhi jalannya eksperimen dengan menggunakan metode deskriptif eksploratif.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi dari penelitian ini yaitu 5 sampel darah dari suspek TB laten (kontak serumah penderita TB positif).
2. Sampel penelitian ini yaitu darah dari kontak serumah TB positif dengan volume cukup 3-5 ml yang telah mendapat persetujuan etik dengan nomor protokol UH17060434.

D. Variabel Penelitian

Adapun jenis variabel pada penelitian ini yaitu variabel tunggal *Mycobacterium tuberculosis* dari darah suspek TB laten.

E. Definisi Operasional Variabel

Mycobacterium tuberculosis merupakan bakteri tahan asam (BTA) yang merupakan bakteri penyebab penyakit Tuberkulosis Paru. Seorang yang terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* namun tidak didapatkan bukti klinis disebut TB laten. PCR merupakan teknik molekuler yang digunakan untuk mengamplifikasi suatu urutan DNA yang spesifik pada genom.

F. Instrumen Penelitian (Alat dan Bahan)

1. Alat

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu vaculab plain 5 ml, spuit 5 cc, *torniquet*, kasa swab/kaps alkohol. plester/*hepafix*, *handscoon*, *sentrifuge*, BSC Tipe II, mikropipet (1000 ul, 100 ul, 20 ul, 10 ul), Cetakan Agarosa, Tips (1000 ul, 100 ul, 20 ul, 10 ul), Tabung *efendorf*, Tabung PCR, labu Erlenmeyer, LAF (*Laminar Air Flow*), gelas ukur, *water bath*, vortex, neraca analitik, spatula, kertas label, *stopwatch*, mesin PCR (Biorad), Gel DOC, satu set alat elektroforesis, UV transulaminator, komputer dan *freezer*.

2. Bahan

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel darah dari keluarga pasien TB positif 3-5 ml, aquades, H₂O, proteinase K, *buffer*, ethanol, *Ethidium Bromida* (EtBr), tissue, Primer *M. tbc* (T4T5) (Primer forward: T4-5' CCT GCG AGC GTA GGC GTC GG 35', primer reverse: T5-55' CTC GTC CAG CGC CGC TTC GG 35'), Enzim PCR (Kappa Hot Star Taq DNA polymerase), MgCl, *RNase Free water*, agarosa, TBE 0,5 %, Loading Dey, DNA Leader/Marker (100 bp).

G. Prosedur Kerja

1. Preparasi Sampel

Mempersiapkan alat, mencuci tangan, menjelaskan maksud dan tujuan penelitian, menggunakan *handscoon*, menentukan vena dan lokasi, memasang *torniquet*, mensterilkan lokasi penusukan dan mulai mengambil sampel.

2. Prosedur Pengambilan Sampel

Memakai *handscoon*, pilih vena yang besar dan terlihat agar mudah mengambilnya, pasang *torniquet* diatas lokasi penusukan kurang lebih 10 cm, dengan kasa swab atau kaps alkohol sterilkan lokasi penusukan, dengan sekali usap secara memutar dari arah dalam keluar, menggunakan spuit 3 cc atau sesuai kebutuhan, tusuk lokasi vena tersebut dengan sudut 30°-45°. Dipastikan jarum masuk ke vena dengan menarik sedikit pompa spuit, jika belum ada darah masuk dicari kembali tanpa mencabut jarum. Jika sudah masuk disedot darah sampai

jumlah yang dibutuhkan. Jangan lupa membuka *tourniquet*. Jika sudah cabut jarum dengan arah sama seperti arah penusukan, dep atau tutup dan tekan dengan kasa luka bekas tusukan dan plester. Dimasukkan sampel darah ke tabung sampel. dilepaskan *handscoon* dan cuci tangan. diberi tanggal dan nama pada tabung sampel (Anterior88, 2015).

3. Prosedur Kerja Identifikasi Darah TB Laten Secara Molekuler

a. Ekstraksi DNA

Sampel dimasukkan kedalam tabung *ependorf* 1,5 ml dan ditambahkan 20 ul proteinase K (sebelumnya ditambahkan ddH₂O add 1 ml), diinkubasi pada suhu 60°C selama 5 menit. Ditambahkan 200 ul larutan GSB buffer. Diinkubasi pada suhu 60°C selama 5 menit, dimana tiap 2 menit divortex. Ditambahkan 200 ul ethanol absolut campur selama 10 detik. Ditransfer kedalam GD Column in 2 ml collection tube sentrifuge dengan kecepatan 14.000 – 16.000 (15.000) X g selama 1menit. Ditambahkan 400 ul W1 Buffer kedalam GD column, disentrifuge dengan kecepatan 14.000 – 16.000 (15.000) X g selama 30 detik, dibuang cairan yang terdapat pada *collection tube*. Ditambahkan 600 ul Wash Buffer (sebelumnya ditambahkan Ethanol 100 ml) disentrifuge dengan kecepatan 14 .000 – 16.000 (15.000) X g selama 30 detik buang cairan yang terdapat pada *collection tube* sentrifuge dengan kecepatan 14.000 – 16.000 (15.000) X g selama 3 menit. Dipindahkan GD column kedalam tabung *efendorf* 1,5 ml, ditambahkan 100 ul *elution buffer* yang sebelumnya telah dipanaskan, didiamkan

selama 3 menit, tube sentrifuge dengan kecepatan 14.000–16.000 (15.000) X g selama 1 menit. buang GD *column*, cairan yang terdapat pada tabung *efendorf* 1,5 ml merupakan DNA produk dari sampel yang telah diekstraksi dan siap untuk di PCR (SOP Lab. Mikrobiologi RSP Unhas).

b. Amplifikasi PCR

Weston (2006), *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan suatu proses sintesis enzimatis untuk melipat gandakan sekuens nukleotida tertentu secara *in vitro*. Prosesnya meliputi 3 tahap, yaitu *denaturation*, *annealing* dan *extention*. Prosedur ini dikerjakan pada sampel DNA yang telah diisolasi. Sampel yang telah siap untuk di amplifikasi selanjutnya dimasukkan ke mesin PCR. Reaksi akan mengikuti proses.

Table 3.1. Komposisi PCR Mix *M.tuberculosis*

Reaksi	(μ l)
Kappa Master Mix	12,5 μ l
MgCl ₂	0,5 μ l
Primer T4	0,5 μ l
Primer T5	0,5 μ l
DNA Sampel	5,0 μ l
Nuclesa Free Water	6,0 μ l
Total	25 μ l

Total volume sampel 25 μ l, kemudian dimasukkan kedalam mesin PCR. Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan mesin PCR (Biorad). Untuk amplifikasi PCR, tahap awal pre-denaturasi pada suhu 95°C selama 5 menit, selanjutnya denaturasi 95°C selama 1 menit, annealing pada suhu 65°C selama 2 menit, ekstensi 72°C selama 2 menit sebanyak 40 siklus dilanjutkan dengan ekstensi akhir suhu 72°C selama 10 menit.

Tabel 3.2. Run/Kondisi PCR

1 Siklus	95°C selama 5 menit (Pre-denaturasi)
Diikuti 40 siklus	95°C selama 1 menit (Denaturasi)
	65°C selama 2 menit (Annealing)
	72°C selama 2 menit (Ekstensi)
1 Siklus	72°C selama 10 menit (Ekstensi akhir)

c. Elektroforesis Gel Agarose

Disiapkan gel agarose ditimbang 2 gr agarose dan dilarutkan dalam 100 ml TBE *Buffer* 0,5x untuk mendapatkan larutan agarose 2%. Campuran agarose dan TBE *Buffer* 0,5x dipanaskan hingga larut kemudian ditunggu hingga agak dingin kemudian ditambah 5 μ l *Ethidium Bromida* (EtBr). Larutan agarose dituang kedalam cetakan dan ditunggu hingga beku. Gel yang telah beku dimasukkan kedalam elektroforesis dan direndam dalam larutan TBE 0,5x. Sebanyak 15 μ l *amplicon* hasil PCR (kontrol positif, kontrol negatif, sampel)

ditambah dengan 2 μ l *loading Dye* (tanpa marker), dicampur dan dimasukkan kedalam sumur-sumur gel sebanyak 10 μ l. Pada lubang pertama tambahkan 10 μ l DNA leader 100 bp dimasukkan kedalam sumur didekat kontrol positif

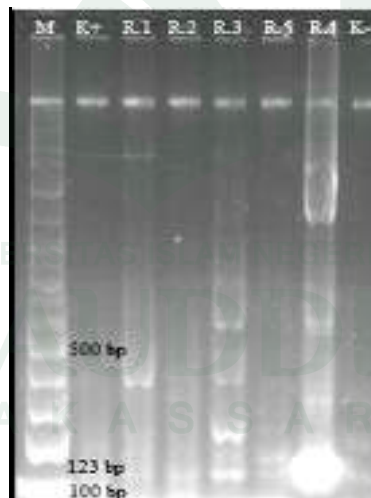


BAB IV

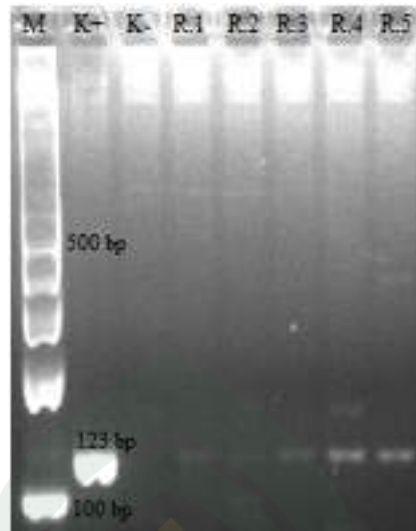
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

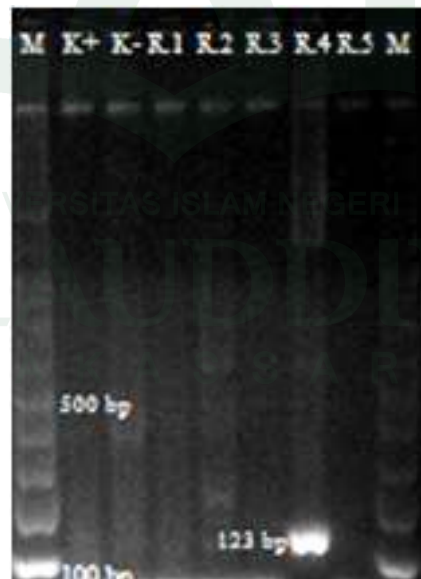
Deteksi *M. tuberculosis* dengan menggunakan 5 sampel darah suspek TB laten dan dilakukan tahap ekstraksi DNA bakteri, selanjutnya dilakukan metode PCR dengan menggunakan primer *M. tuberculosis* (T4T5). Hasil elektroforesis satu (sampel R.5) dari kelima sampel tersebut terdapat pita yang teresparasi dan sejajar dengan marker sekitar 123 bp. Adapun hasil dari elektroforesis dari kelima sampel dapat dilihat pada gambar 4.1, 4.2 dan 4.3 berikut:



Gambar 4.1 Hasil elektroforesis dari produk amplifikasi *M.tbc* (T4T5)
(M : Marker 1 kb, K⁽⁺⁾ : Kontrol Positif; R.1,R.2,R.3,R.5,R.4 :
Sampel, K⁽⁻⁾: Kontrol Negatif)



Gambar 4.2 Hasil elektroforesis dari produk amplifikasi *M.tbz* (T4T5) dengan siklus yang berbeda dari hasil elektroforesis pertama (M : Marker 1 kb, $K^{(+)}$: Kontrol Positif, $K^{(-)}$: Kontrol Negatif, R.1,R.2,R.3,R.4,R.5 : Sampel)



Gambar 4.3 Hasil elektroforesis dari produk amplifikasi *M.tbz* (T4T5) (M : Marker 1 kb, $K^{(+)}$: Kontrol Positif, $K^{(-)}$: Kontrol Negatif, R.1,R.2,R.3,R.4,R.5 : Sampel, M : Marker 1 kb)

B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin pada bulan April hingga Juni 2017 dengan mengumpulkan data sekunder dari rekam medis pasien TB paru dengan BTA (+) yang berobat di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar. Sampel merupakan darah kontak serumah pasien TB paru dengan BTA (+) baik rawat jalan, rawat inap maupun UGD di BBKPM Makassar sebanyak 5 sampel dengan volume 3–5 ml yang sebelumnya telah mendapat penjelasan tentang maksud dan tujuan serta memahami penelitian yang dilakukan dan telah bersedia untuk berperan serta menjadi subjek penelitian. Sampel diambil oleh petugas laboratorium BBKPM Makassar dan segera dibawa ke laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Unhas untuk diteliti karena mikroorganisme yang terdapat didalamnya tidak tahan terhadap suhu tinggi. Penelitian diawali dengan pemisahan antara serum dan darah murni, kemudian dilakukan ekstraksi DNA bakteri *M. tuberculosis* dari serum darah.

DNA yang digunakan sebagai cetakan untuk proses amplifikasi pada PCR merupakan hasil ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan 5,0 µl darah dari kontak serumah penderita TB (+) yang sebelumnya telah dipisahkan antara serum darah dan darah murninya.

Tahap pertama dalam isolasi DNA adalah proses perusakan atau penghancuran membran dan dinding sel. Pemecahan sel (lisis) merupakan tahapan dari awal isolasi DNA yang bertujuan untuk mengeluarkan isi sel. Pada proses lisis dengan menggunakan GSB *buffer*. *Buffer* tersebut selain berperan dalam melisiskan membran

sel juga dapat berperan dalam mengurangi aktivitas enzim nuklease yang merupakan enzim pendegradasi.

Pada proses pemanasan tinggi atau metode boiling selama beberapa menit akan menyebabkan peningkatan permeabilitas dinding sel yang berakibat pada masuknya cairan dan materi lain di sekitar sel dan keluarnya materi-materi dari dalam sel. Suhu tinggi juga bermanfaat untuk inaktivasi enzim terutama DN-ase yang dapat merusak DNA. Suhu pemanasan yang dilakukan pada penelitian ini suhu 60°C selama 5 menit.

Suhu yang terlalu tinggi atau waktu yang terlalu lama pada saat pemanasan dikhawatirkan akan merusak DNA target dan akan memperpanjang proses ekstraksi, mengakibatkan proses pengeluaran DNA tidak sempurna sehingga kemungkinan adanya DNA yang terperangkap dalam sel. Eliminasi partikel lain juga tidak sempurna sehingga dapat menjadi inhibitor pada proses amplifikasi.

Proses ekstraksi yang dilakukan sesuai dengan petunjuk pedoman (SOP RS Unhas). Di dalam prosedur manual ini ada beberapa proses penting dalam ekstraksi yaitu preparasi sampel, lisis sel, pengikatan DNA, pencucian dan elusi. Pertama sel dilisys menggunakan lysis buffer (buffer AL). Komponen sel (terutama protein) dihancurkan dengan menggunakan proteinase K (sebelumnya ditambah ddH₂O 1 ml) dan DNA diendapkan dengan menggunakan ethanol absolut difilter dan dicuci dengan washing buffer (W1 buffer). Terakhir, DNA dilarutkan dalam elution buffer (buffer AE).

Hasil ekstraksi DNA kemudian diamplifikasi PCR menggunakan primer khusus *M. tb* T4T5. Komponen yang terdapat pada master mix memiliki fungsi yang berbeda. Kappa master mix berguna untuk mengamplifikasi fragmen DNA target. MgCl₂ sebagai kofaktor yang berfungsi menstimulasi aktivitas DNA polymerase. Dengan adanya MgCl₂ ini akan meningkatkan interaksi primer dengan template yang membentuk kompleks larut dengan dNTP. Primer merupakan oligonukleotida pendek yang mengawali reaksi polimerisasi dan berfungsi untuk menentukan awal serta akhir bagian yang akan diamplifikasi (Vanfleteren and Vierstraete, 1999). Primer yang dipergunakan untuk sampel DNA darah suspek TB laten adalah *M. tb* T4T5. Primer terdiri dari forward dan reverse. Primer forward (T4-5' CCT GCG AGC GTA GGC GTC GG 35') merupakan penyalin DNA templat bagian forward, sedangkan primer reverse (T5-55' CTC GTC CAG CGC CGC TTC GG 35') merupakan penyalin DNA templat bagian reverse (Pourazar and Shanehsazzadeh, 2011). Sampel DNA dipergunakan sebagai cetakan untuk pembentukan molekul DNA baru yang sama. ddH₂O digunakan sebagai pelarut DNA dan sebagai media terjadinya reaksi yang tidak mengandung ion ataupun DNA/RNA. Hal ini penting untuk mendukung terjadinya reaksi PCR terkait dengan sensitivitas PCR (Hause and Fester, 2005). Setiap perlakuan pemindahan larutan atau reagen dilakukan pipetting dan mix gentle-finger agar setiap komponen homogen. Pencampuran yang tidak merata akan mengakibatkan terjadinya kegagalan pada reaksi. Thawing dilakukan pada tiap komponen yang ingin dimasukkan (yang telah disimpan pada temperatur rendah). Hal

ini dilakukan untuk memastikan bahwa komponen tersebut telah siap dipergunakan (The American Heritage, 2000).

Hasil dari PCR yang telah dilakukan kemudian dilihat pada elektroforesis. Dari hasil elektroforesis ini maka akan diketahui maksimal atau tidak hasil elektroforesis tersebut. Hasil elektroforesis tersebut terlihat pada gambar (Gambar 4.1 Hasil elektroforesis dari produk amplifikasi *M. tbc* (T4T5)). Dilihat dari hasil elektroforesis tampak bahwa adanya perpindahan DNA dari kutub negatif ke kutub positif. Terlihat pada sampel R.4 mengalami ketebalan pita pada ukuran 123 bp, pada sampel R.1, R.2, R.3 dan R.5 tidak terlihat ketebalan pita pada ukuran manapun dan terlihat adanya kontrol (-), hal ini menunjukkan bahwa proses amplifikasi melalui PCR tidak berhasil dilakukan sehingga DNA tidak bisa diperbanyak dengan sempurna. Menurut (Asy'ari dan Saifuddin, 2005), jika suhu annealing terlalu tinggi maka penempelan primer pada *template* DNA akan lepas kembali sehingga produk PCR tidak terbentuk (sampel R.1, R.2, R.3 dan R.5), sebaliknya jika suhu *annealing* terlalu rendah maka akan terjadi penempelan primer pada *template* DNA tidak spesifik sehingga bisa terbentuk produk PCR non spesifik.

Dari hasil diatas yang kurang tepat, maka dilakukan pengulangan dengan kondisi PCR yang berbeda. Kondisi PCR meliputi 40 siklus pada suhu denaturasi 95°C (1'), *annealing* 65°C (2'), dan ekstensi 72°C (2'). Hasil elektroforesis menunjukkan kontrol (-) yang sudah tidak muncul, pada sampel R.1, R.2, R.3, R.4 dan R.5 menunjukkan ketebalan pita yang kurang. Dapat dilihat pada gambar

(Gambar 4.2 Hasil elektroforesis dari produk amplifikasi *M.tbc* (T4T5) dengan siklus yang berbeda dari hasil elektroforesis pertama).

Maka dilakukan pengulangan pada tahap elektroforesis untuk mendapatkan hasil yang maksimal, dengan kondisi PCR yang sama pada hasil sebelumnya. Pada hasil elektroforesis menunjukkan R.1, R.2, R.3 dan R.5 terletak pada pita dibawah 100 bp, ke-4 sampel tersebut menunjukkan hasil yang negatif, seharusnya fragmen terletak pada 123 bp . Pada sampel R.4 terlihat pita yang tebal terletak pada 123 bp, sehingga dapat disimpulkan bahwa pada sampel R.4 menunjukkan hasil yang positif terdapat *M. tuberculosis* pada sampel tersebut. Hasil elektroforesis tersebut dapat dilihat pada gambar (Gambar 4.3 Hasil elektroforesis dari produk amplifikasi *M.tbc* (T4T5)). Dari ke-5 sampel darah 4 menunjukkan hasil yang negatif. Pada sampel R.1, R.2, R.3 dan R.5 tidak terdapat DNA bakteri *M. tuberculosis* (negatif). Pada sampel R.4 terletak pada posisi 123 bp, hal ini menunjukkan hasil yang positif (+) terdapat bakteri *M. tuberculosis* pada DNA sampel.

Hal ini juga dipengaruhi oleh hubungan antara penderita TB paru dengan responden. Jika responden sering melakukan kontak langsung dengan penderita tanpa menjaga keaseptipannya, seperti berbicara tanpa menggunakan masker, menggunakan perlengkapan makan dan minum yang sama dan responden tersebut memiliki sistem imun yang lemah maka bakteri penyebab TB akan dengan mudah masuk dan berkembang pada responden tersebut, sebaliknya jika responden menjaga keaseptipannya pada saat melakukan kontak langsung dengan penderita dan memiliki sistem imun yang baik maka bakteri penyebab TB akan sulit menyerang orang

tersebut. Ketika bakteri penyebab TB masuk dan berkembang kedalam tubuh seseorang dan orang tersebut tidak melakukan pencegahan secara dini, tidak menjaga pola hidupnya maka perlahan bakteri pada orang tersebut semakin berkembang biak dan menjadi TB positif pada orang tersebut.

Faktor usia, jenis kelamin dan lingkungan juga berpengaruh. Dari data (Depkes RI, 2011), pada kelompok usia, kasus baru yang ditemukan paling banyak pada kelompok usia 25-34 tahun yaitu sebesar 21,40% diikuti kelompok usia 35-44 tahun sebesar 19,41% dan pada kelompok usia 45-54 tahun sebesar 19,39%. 3 Sekitar 75% pasien TB adalah kelompok usia yang paling produktif secara ekonomis (15-50 tahun). Diperkirakan seorang pasien TB dewasa, akan kehilangan rata-rata waktu kerjanya 3 sampai 4 bulan. Hal tersebut berakibat pada kehilangan pendapatan tahunan rumah tangganya sekitar 20-30%. Lingkungan kerja yang padat serta berhubungan dengan banyak orang juga dapat meningkatkan risiko terjadinya TB paru. Kondisi kerja yang demikian ini memudahkan seseorang yang berusia produktif lebih mudah dan lebih banyak menderita TB paru (Jendra dkk, 2015).

Menurut jenis kelamin, kasus BTA+ pada laki-laki lebih tinggi daripada perempuan yaitu hampir 1,5 kali dibandingkan kasus BTA+ pada perempuan. Pada masing-masing provinsi di seluruh Indonesia kasus BTA+ lebih banyak terjadi pada laki-laki dibandingkan perempuan (Depkes, 2014). Dimana laki-laki beresiko lebih besar untuk terkena penyakit TB paru dibandingkan dengan perempuan. Hal ini disebabkan laki-laki lebih banyak yang merokok dan minum alkohol dibandingkan

dengan perempuan. Merokok dan alkohol dapat menurunkan imunitas tubuh sehingga lebih mudah terkena penyakit TB paru (Jendra dkk, 2015).

Lingkungan rumah merupakan salah satu faktor yang berperan dalam penyebaran bakteri tuberkulosis. Bakteri tuberkulosis dapat hidup dalam 1-2 jam sampai beberapa hari tergantung dari ada tidaknya sinar matahari, ventilasi yang baik, kelembaban, suhu rumah dan kepadatan hunian rumah (Lahabama, 2013). Kepadatan penghuni merupakan salah satu faktor risiko TB. Dimana semakin padat rumah maka perpindahan penyakit, khususnya penyakit menular melalui udara akan semakin mudah dan cepat, apabila terdapat anggota keluarga yang menderita TB dengan BTA positif yang secara tidak sengaja batuk. Bakteri *M. tuberculosis* akan menetap di udara selama kurang lebih 2 jam sehingga memiliki kemungkinan untuk menularkan penyakit pada anggota yang belum terpapar bakteri *M. tuberculosis* (Jendra dkk, 2015).

Keberhasilan amplifikasi fragmen DNA dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu DNA *template*, primer, *buffer* PCR, MgCl₂, enzim *polymerase*, suhu, waktu dan jumlah siklus (Sambrook dan Russell, 2001). Pada tahap *annealing* salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan amplifikasi adalah suhu karena proses penempelan primer pada utas DNA yang sudah terbuka memerlukan suhu optimal. Jika suhu terlalu tinggi akan menyebabkan gagalnya amplifikasi karena tidak terjadi penempelan primer sebaliknya jika suhu terlalu rendah menyebabkan primer menempel pada sisi lain genom akibatnya DNA yang terbentuk memiliki spesifisitas

rendah, sehingga sangat penting untuk mencari suhu *annealing* yang optimum bagi proses aplikasi (Rybicky, 1996).



BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Adapun kesimpulan pada penelitian ini yaitu dari 5 sampel darah suspek TB laten (kontak serumah TB positif) menunjukkan bahwa satu sampel darah positif ditemukan adanya *Mycobacterium tuberculosis* yang melalui uji molekuler dengan menggunakan metode PCR, hasil positif dapat dilihat dari ketebalan pita yang berada pada posisi target band yaitu 123 bp.

B. Implikasi penelitian (Saran)

Adapun saran yang ingin saya sampaikan adalah pada penelitian ini mendapatkan hasil yang optimal, namun masih diperlukan optimasi lebih lanjut pada faktor lain yang mempengaruhi proses amplifikasi, antara lain optimasi *template* DNA, waktu amplifikasi dan jumlah siklus pada proses amplifikasi PCR, sehingga diperoleh hasil DNA yang lebih banyak dan terjamin spesifitasnya, jumlah sampel yang lebih banyak juga sebaiknya diperhitungkan pada penelitian selanjutnya.

KEPUSTAKAAN

- Abdullah. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid I*. Bogor: Pustaka Imam Asy Syafi'i, 2004.
- Abdullah. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5*. Bogor: Pustaka Imam Asy Syafi'i, 2003.
- Adjuwana. *Teknik Spektroskopi dalam Analisis Biologi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor, 1989.
- Al-Mahally, Imam Jalaluddin dan Imam Jalaluddin As-suyutti. *Tafsir Jalalain, Jilid I*. Bandung: Sinar Baru, 1990.
- Andarini, S.I dan Suharyo. *Diagnosis Dini Tuberkulosis pada Kontak Serumah dengan Penderita Tuberkulosis Paru melalui Deteksi Kadar IFN- γ* . Semarang: Universitas Dian Nuswantoro, 2014.
- Anderson, S.P., and McCarty, L.W. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit E/6, Vol.2*. Jakarta: EGC, 2005.
- Andyka, O.P. Studi Kasus *Mycobacterium Tuberculosis* Yang Resisten Terhadap Antibiotik Lini Pertama Pada Pasien Tuberkulosis di RSUP Fatmawati. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, 2012.
- Anterior88. *Cara Mengambil Sampel Darah*. Praktik Keperawatan (1 Juni 2015).
- Arfani,E.A.,et. al. NMDA Receptor Antagonism Potentiates the L-DOPA-Induced Extracellular Dopamine Release in the Subthalamic Nucleus of Hemi-Parkinson Rats. *Neuropharmacology* 85, 198–205. (2013)
- Aru, W.S., Bambang S., Idrus A., Marcellus S.K., Siti S. *Ilmu Penyakit Dalam Jilid III Edisi V*. Jakarta Pusat: InternaPublishing, 2009.
- Asy'ari, M., dan Saifuddin, A.N. Optimasi Konsentrasi $MgCl_2$ dan Suhu Annealing Pada Proses Amplifikasi Multifragments mtDNA Dengan Metode PCR. *JKSA*. Vol. VIII. No.1 (April 2005).
- Bartlett, M.S.J dan Stirling, D. PCR Protocols Methods in Molecular Biology Volume 226, Second Edition, Totowa, New Jersey: *Humana Press Inc* (2003).

- Corwin, E.J. *Patofisiologi* : Buku Saku. Jakarta: EGC, 2009.
- Darmanto, R.D. *Respirologi (Respiratory Medicine)*. Jakarta: EGC, 2009.
- Departemen Kesehatan RI. *Pedoman nasional pengendalian tuberculosis*. Edisi ke-2, Jakarta: Depkes RI, 2011.
- Departemen Kesehatan RI. *Profil Kesehatan Indonesia 2013*. Jakarta : Kementerian Kesehatan RI, 2014.
- Dinas Kesehatan Kota Makassar. *Profil Kesehatan Kota Makassar 2013*, 2014.
- Dinas Kesehatan Kota Makassar. *Profil Kesehatan Kota Makassar*, 2009.
- Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan. *Profil Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan*. Makassar: Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan, 2014.
- Daniel, T.M., Bates, J.H., Downes, K.A. *History of tuberculosis*. In: Bloom BR, ed. *Tuberculosis : Pathogenesis, Protection and Control*. 1st ed. Washington DC: ASM Press, 1994.
- Effendi, M.S. *Sistem Pernapasan*. Nur Al-Mu'min, 2011.
- Fatchiyah, dkk. *Buku Praktikum Teknik Analisis Biologi Molekuler*. Malang: Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya, 2012.
- Foroughi, M., Mohaghegh, S.M., Ahmad, S.S.A., Moradmand, B.B., Heiydarpour, P., Roosta, N., Rasoolinejad, M. and Emadi, H.C. Incidence of Isolation of *Mycobacterium Tuberculosis* from Blood Samples in Tuberculosis Patients in Imam Khomeini Hospital, Tehran, Iran. *Acta Medica Iranica*, Vol. 49, No. 8 (2011).
- Garibyan, L and Avashia, N. Research Techiques Made Simple: Polymerase Chain Reaction (PCR). *J Invest Dermatol*, 133(3): e6. (March 2013).
- Girsang, M. *Mycobacterium Penyebab Penyakit Tuberkulosis Serta Mengenal Sifat-Sifat Pertumbuhan di Laboratorium*. Jakarta: Pusat Biomedis & Teknologi Dasar Kesehatan, 2013.
- Handoyo, D dan Rudiretna, A. Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Unitas*, vol.9, No.1. (ferbruari 2001).

- Harris, J.K., Ann, M.D.G., Sagel, S.D., Zemanick, E.T., Kapsner, R., Penvari, C., Kaess, H., Deterding, R.R., Accurso, F.J., and Pace, N.R. Molecular Identification of Bacteria in Bronchoalveolar Lavage Fluid From Children With Cystic Fibrosis. *PNAS* Vol. 104 No. 51. (December 2007).
- Hause, B. and Fester, T. Molecular and Cell Biology of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Planta*, 221: 184-196 (2005).
- Hiswani. *Tuberkulosis Merupakan Penyakit Infeksi yang Masih Menjadi Masalah Kesehatan Masyarakat*. Universitas Sumatera Utara, 2010.
- Innis, M.A.(Eds.). *PCR Protocols a Guide to Methods and Applications*. California: Academic Press, 1990.
- Jendra, F.J.D., Margareth, R.S dan Grace, D.K. Hubungan Faktor Risiko Umur, Jenis Kelamin dan Kepadatan Hunian Dengan Kejadian TB Paru di Desa Wori Kecamatan Wori. *J. Kedokteran komunitas & Tropik* : Vol. III, No. 2 (April 2015).
- Kementrian Agama RI. *Mushaf, Cetakan Pertama*. Bandung: PT Mizan Pustaka, 2012.
- Kementrian Kesehatan RI. *Infodatin*. Jakarta: Pusatdatin, 2015.
- Kusuma, C. HMS. Diagnostik Tuberkulosis Baru. Lab/SMF. Ilmu Kesehatan Anak FK. Unibraw. *Sari Dediatri*, Vol.8, No.4 (Suplemen). (Mei 2007).
- Lahabama, J, *Hubungan Kepadatan Hunian Rumah terhadap penularan Tuberkulosis paru di Kota Pontianak Tahun 2010-2011*. Fakultas Kedokteran, 2013.
- Mordechai, E., *Application of PCR The methodologies in Molecular Diagnostic*. Burlington Country, USA. 1999.
- Malik, Amalia dan Kusmiati. Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri *Leuconostoc Mesenteroides* Phac1 Pada Berbagai Media. *Makala, Kesehatan*, Vol.6, No.1. Cibinong: Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI. (2002).
- Nasir, M., *Bioteknologi Potensi Dan Keberhasilannya Dalam Bidang Pertanian*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada, 2002.
- Nawaz, A.Z.I.C., Shahid, M., Gul, S., Khan, F.A and Hussain, M. Detection Of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* In Sputum and Blood

- Samples Of Human. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 22 (2 suppl.) page: 117-120 (2012).
- Newton, C.R. and A. Graham. PCR. UK: *Bios Scientific Publisher*. (1994).
- Notopuro, P.B., Nugraha, J., dan Notopuro, H. *Molecular Detection of Mycobacterium Tuberculosis in Sputum With Polymerase Chain Reaction*. Surabaya: FK-UNAIR, 2008.
- Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. *Tuberkulosis: Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan Di Indonesia*. PDPI, 2002.
- Pourazar, A. and Shanehsazzadeh, M. The Prevalence of Mycobacterium tuberculosis (TB) in Respiratory Affected Afghani Habitants Detected By Polymerase Chain Reaction (PCR) Technique, Isfahan, Iran. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, ISSN: 2231-6345, Vol. 1 (4) (October-December, 2011)
- Pratiwi, R. Mengenal Metode Elektroforesis. *Oseana*, Vol. XXVI, No. 1 (November 2014).
- Pulimood, A.B., Peter, S., Rook, G.W.A. and Donoghue, H.D. In Situ PCR for *Mycobacterium tuberculosis* in Endoscopic Mucosal Biopsy Specimens of Interstitial Tuberculosis and Crohn Disease. *Am J Clin Pathol*, 129: 846-851, (2008).
- Robert, M.J., Payam, N., and Philip, C.H. Latent Tuberculosis Infention. *N Eng J Med*, Vol. 347, No. 23 (December 5, 2002).
- Ruswanto, B. *Analisis Spasial Sebaran Kasus Tuberkulosis Paru Ditinjau dari Faktor Lingkungan Dalam dan Luar Rumah di Kabupaten Pekalongan*. Semarang: Universitas Diponegoro, 2010.
- Rybicky, E.P. *PCR Primer Design and Reaction Optimisation. In Molecular Biology Techniques Manual*. Ed.V.E. Coyne, M.D. James, S.J. Reid & E.P.Rybicki. Dept.of Microbiology. Univ. Cape Town, 1996.
- Sambrook. *Molecular Cloning*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- Sambrook, J., and Russell, D.W. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3th ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Book 1&2. (2001).

- Sergeant, J.R. dan George, S.G. *Methods in Zone Electrophoresis* BDH Chemical LTD. *Poole England*: 219pp. (1975).
- Serviyanti, I., Soeliongan, S., Kountul, C. Pola Bakteri Dari Sputum Penderita Infeksi Saluran Pernapasan Di Puskesmas Bahu. *Jurnal e-Biomedik (eBM)*. Vol.1, No.1. (Maret, 2013).
- Shihab, M. Quraish. *Tafsir al-Misbah*. Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- Suhadi, F., Sudrajat, D., dan Lina, M.R. *Deteksi Mycobakterium tuberculosis dengan Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Jakarta: PPNY-BATAN, 1996.
- The American Heritage. *Dictionary of the English Language. Fourth Edition*. Houghton Mifflin Company. "Polymerase Chain Reaction". 2000.
- Todar, K. *Online Textbook of Bacteriology*. Department of Bacteriology. Madison: University of Wisconsin, 2005.
- Utji., Robert., Hasrul. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara, 1994.
- Vandepitte, J., K. Engbaek, P. Rohner, P. Piot., C.C. Heuck. *Prosedur Laboratorium Dasar Untuk Bakteriologi Klinis. Edisi 2. Terjemahan L. Setiawan*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC, 2010.
- Vanfleteren, J.R. and Vierstraete, A.R. Insertional RNA Editing in Metazoan Mitochondria: The Cytochrome *b* Gene in the Nematode *Teratocephalus lirellus*. *Cambridge University Press*. 5: 622-624, (1999).
- Waksman, S.A. *The Conquest of Tuberculosis*. University of California: Barkeley, 1999.
- Weston, K.H. Identifying Unknown Bacteria Using Biochemical and Molecular Methods. *Washington University in Saint Louis*. (April 2006).
- World Health Organization. *Global tuberculosis control*. WHO Report 1999. Geneva: WHO, 1999.
- World Health Organization. *Global Tuberculosis Control*. WHO report Geneva: WHO, 2000.
- WHO. *Global Tuberculosis Report*. World Health Organization, 2015.

WHO. *Global Tuberculosis Report*. World Health Organization, 2015.

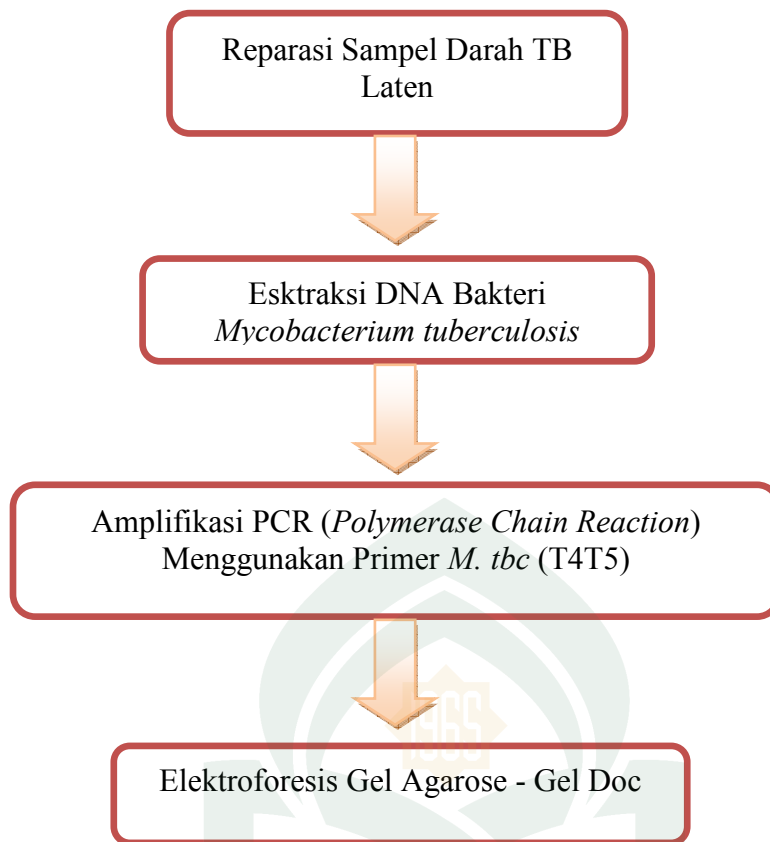
Wulan, A.S. Ekstraksi DNA, Reaksi Berantai Polimerase PCR dan Electroforesis. *Laporan Praktikum Biomolekular*. Manokwari: Universitas Negeri Papua, 2013.

Zhou, Y.H.P.Li, Zheng, H., Zhang, R.X., Chen, G. and Baughman, R.P. Differentiation of Sarcoidosis From Tuberculosis Using Real-Time PCR Assay For The Detection and Quantification of *Mycobacterium tuberculosis*. *Sarcoidosis Vasculitis and Diffuse Lung Diseases*, 25: 93-99, (2008).



LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja



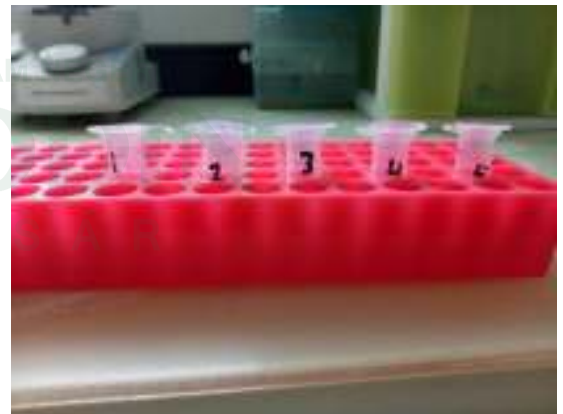
Lampiran 2. Gambar sampel darah suspek TB laten dari Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar



a. Gambar sampel darah suspek TB laten



b. Gambar sampel serum darah suspek TB laten



c. Gambar hasil ekstraksi DNA *Mycobacterium tuberculosis*

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



a. Gambar pembuatan master mix PCR



b. Gambar proses elektroforesis

Lampira 4. Data Sampel

No.	Nama Sampel	Usia	Jenis Kelamin	Jenis Penyakit	Hubungan pasien dengan responden	Volume darah	Hasil Penelitian	Ket.
1	S.S	26	Perempuan	TB paru	Anak dari pasien	3-5 ml	(-)	
2	S.MDS	50	Laki-laki	TB paru	Suami dari pasien	3-5 ml	(-)	
3	S.SF	45	Perempuan	TB paru	Ibu dari pasien	3-5 ml	(-)	
4	S.S	±60	Perempuan	TB paru	Ibu dari pasien	3-5 ml	(-)	
5	S.U	48	Perempuan	TB paru	Istri dari pasien	3-5 ml	(+)	



Lampiran 5. Persetujuan etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
RSPTN UNIVERSITAS HASANUDDIN
RSUP Dr. WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR
KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN



Sekretariat : Lantai 3 Gedung Laboratorium Terpadu
 JL.PERINTIS KEMERDEKAAN KAMPUS TAMALANREA KM.10 MAKASSAR 90245.
 Contact Person: dr. Agussalim Bukhari, MMed, PhD, SpGK TELP. 081241850858, 0411 5780103, Fax : 0411-581431

REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK

Nomor : 480 / H4.8.4.5.31 / PP36-KOMETIK / 2017

Tanggal: 10 Juli 2017

Dengan ini Menyatakan bahwa Protokol dan Dokumen yang Berhubungan Dengan Protokol berikut ini telah mendapatkan Persetujuan Etik :

No Protokol	UH17060434	No Sponsor	
Peneliti Utama	Risqa Nur Qalam	Sponsor	Pribadi
Judul Peneliti	Identifikasi Mycobacterium tuberculosis pada TB Laten menggunakan Sampel Darah		
No Versi Protokol	1	Tanggal Versi	14 Juni 2017
No Versi PSP	1	Tanggal Versi	14 Juni 2017
Tempat Penelitian	RSPTN Universitas Hasanuddin Makassar		
Dokumen Lain			
Jenis Review	<input type="checkbox"/> Exempted <input checked="" type="checkbox"/> Expedited <input type="checkbox"/> Fullboard Tanggal	Masa Berlaku 10 Juli 2017 sampai 10 Juli 2018	Frekuensi review lanjutan
Ketua Komisi Etik Penelitian	Nama Prof.Dr.dr. Suryani As'ad, M.Sc.,Sp.GK (K)	Tanda tangan 	Tanggal
Sekretaris Komisi Etik Penelitian	Nama dr. Agussalim Bukhari, M.Med.,Ph.D.,Sp.GK (K)	Tanda tangan 	Tanggal

Kewajiban Peneliti Utama:

- Menyerahkan Amandemen Protokol untuk persetujuan sebelum di implementasikan
- Menyerahkan Laporan SAE ke Komisi Etik dalam 24 jam dan dilengkapi dalam 7 hari dan Lapor SUSAR dalam 72 jam setelah Peneliti Utama menerima laporan
- Menyerahkan Laporan Kemajuan (progress report) setiap 6 bulan untuk penelitian resiko tinggi dan setiap setahun untuk penelitian resiko rendah
- Menyerahkan laporan akhir setelah Penelitian berakhir
- Melaporkan penyimpangan dari prokol yang disetujui (protocol deviation / violation)
- Mematuhi semua peraturan yang ditentukan

RIWAYAT HIDUP



Risqa Nur Qalam. Dilahirkan pada tanggal 21 Juli 1994 di Makassar. Anak keempat dari enam bersaudara, dari pasangan Ayah yang bernama **Drs. Abdul Hafid** dan Ibu **Haspiah B.** Memulai pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) Nusa Putra II Cokroaminoto, SD Negeri 15 Pao-pao, SMP Negeri 16 Makassar, dan kemudian melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 07 Makassar. Pada tahun 2013 penulis melanjutkan pendidikan pada tingkat perkuliahan di UIN Alauddin

Makassar dan selesai pada tahun 2017.

Beberapa organisasi pengurus lembaga yang pernah diikuti semenjak menjadi mahasiswa diantaranya Anggota Jaringan dan Komunikasi HMJ Biologi FST-UINAM periode 2015-2016 dan Wakil Sekretaris HMJ Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar periode 2016-2017.

